

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHANOL OF SPONGE *Callyspongia aerizusa*
FROM MANTEHAGE ISLANDS NORTH MINAHASA REGENCY**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS *Callyspongia aerizusa*
DARI PULAU MANTEHAGE KABUPATEN MINAHASA UTARA**

Puput Soleman¹⁾, Adithya Yudistira¹⁾, Meilani Jayanti¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT, 95115

*puputsoleman23@gmail.com

ABSTRACT

Sponges are one of the biota components that make up coral reefs that have bioactive potential, which has not been widely utilized. *Callyspongia aerizusa* is a sponge that has a compound with high activity and has a porous body surface structure. Antioxidants are compounds that can inhibit free radicals in the body, and inhibit oxidation of body cells, thereby preventing or reducing cell damage. This study aims to determine the antioxidant activity of the ethanol extracts of Sponges *Callyspongia aerizusa* from the waters of Mantehage Island. The Sponge *Callyspongia aerizusa* was extracted using the maceration method with ethanol as the solvent. Antioxidant activity testing was carried out using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method with a concentration of 0.5 mg / L, 0.6 mg / L, and 0.7 mg / L which were measured using a UV-Vis spectrophotometer at the wavelength 517 nm. The results showed that the ethanol extracts of Sponge *Callyspongia aerizusa* was proven to have antioxidant activity. The highest antioxidant content was found at the concentration of 0.7 mg / L with an antioxidant activity of 58.40%.

Keywords: Antioxidant, *Callyspongia aerizusa*, DPPH, Mantehage

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. *Callyspongia aerizusa* ialah salah satu spons yang memiliki senyawa dengan aktivitas tinggi dan memiliki struktur permukaan tubuh yang berpori – pori. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat radikal bebas dalam tubuh, serta menghambat terjadinya oksidasi pada sel tubuh, sehingga dapat mencegah atau mengurangi terjadinya kerusakan sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol Spons *Callyspongia aerizusa* dari perairan Pulau Mantehage. Spons *Callyspongia aerizusa* diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol sebagai pelarut. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan konsentrasi 0,5 mg/L, 0,6 mg/L, dan 0,7 mg/L yang diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol Spons *Callyspongia aerizusa* terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Kadar antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrasi 0,7 mg/L dengan aktivitas antioksidan sebesar 58,40%.

Kata Kunci: Antioksidan, Spons *Callyspongia aerizusa*, DPPH, Mantehage

PENDAHULUAN

Pergeseran pola hidup masyarakat dari pola hidup tradisional menjadi pola hidup yang praktis dan instan, khususnya pada pemilihan makanan, memiliki dampak negatif bagi kesehatan. Makanan cepat saji dengan pemanasan tinggi dan pembakaran merupakan pilihan dominan yang dapat memicu terbentuknya senyawa radikal bebas (Poumorad dkk, 2006). Radikal bebas merupakan suatu senyawa atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh sebagai bagian dari hasil proses metabolisme. Sedangkan radikal bebas yang bersumber dari luar tubuh dapat disebabkan oleh faktor lingkungan, termasuk kebiasaan merokok, penggunaan pestisida pada makanan, polusi dan radiasi (Mbaoji dkk, 2016).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat radikal bebas dalam tubuh, serta menghambat terjadinya oksidasi pada sel tubuh, sehingga dapat mencegah atau mengurangi terjadinya kerusakan sel. Penggunaan senyawa antioksidan berkembang dengan pesat, baik untuk makanan maupun pengobatan. Penggunaannya sebagai obat semakin meningkat dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degenerative seperti penyakit jantung, diabetes, kanker, inflamasi jaringan, kelainan imunitas dan penuaan dini (Ardiansyah, 2007).

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Suparno, 2005). *Callyspongia aerizusa* merupakan salah satu jenis spons yang banyak tumbuh di perairan wilayah Indonesia. *Callyspongia aerizusa* ialah salah satu spons yang memiliki senyawa dengan aktivitas tinggi dan memiliki struktur permukaan tubuh yang berpori – pori sehingga dimasukkan kedalam filum porifera (Sari dkk, 2014). Spons ini mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid 3-alkilpiridin (Voogd dkk, 2005), akartepin yang merupakan inhibitor

dari fosfatidilinositol (Fukami dkk, 1997), dan meroterpenoid sulfat (Gray dkk, 2006). Berdasarkan penelitian Hanani dkk (2005) bahwa ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* mempunyai aktivitas antioksidan dan senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan termasuk golongan alkaloid.

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti bermaksud untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil dari perairan Pulau Mantehage dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2020 sampai Januari 2021 di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi.

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah alat-alat gelas (Iwaki ST Pyrex®), timbangan digital (AE Adam®), spektrofotometer *UV-Vis*, *aluminium foil*, mikro pipet, vortex (Mixer Hwashin) dan *rotary evaporator*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spons *Callyspongia aerizusa*, etanol 95%, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), dan serbuk vitamin C (p.a) sebagai pembanding.

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel ini diambil di perairan Pulau Mantehage menggunakan alat bantu (Masker dan Snorkel). Sebelum diambil, sampel di foto menggunakan kamera bawah laut, setelah diambil dimasukkan dalam kantong plastik jepit yang sudah disiapkan dan disimpan dalam kotak pendingin lalu dibawah ke Laboratorium Farmasi Lanjut, Program Studi Farmasi, Universitas Sam Ratulangi.

Preparasi Sampel

Spons *Callyspongia aerizusa* yang sudah diambil, dicuci kembali dan dipotong-potong kecil lalu sebanyak 450 g sampel dimasukkan kedalam wadah botol, sampel dimaserasi dengan etanol 95% sebanyak 200 mL.

Ekstraksi

Sampel spons *Callyspongia aerizusa* sebanyak 450 g dimaserasi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 200 mL dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam. Sampel kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat. Hasil yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan evaporator sehingga menghasilkan ekstrak kasar dari sampel spons *Callyspongia aerizusa*.

Pembuatan Larutan Ekstrak Spons *Callyspongia aerizusa*

Sebanyak 100 mg ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* dilarutkan dalam 100 mL etanol 95% dengan masing-masing konsentrasi 0,5, 0,6 dan 0,7 mg/L. Rumus yang dipakai yaitu:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Masing-masing hasil yang didapatkan dari hasil V_1 dipipet dan ditambahkan etanol 95% hingga mencapai tanda batas 10 mL, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* untuk digunakan pada perlakuan berikutnya.

Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 4 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 100 mL dalam labu ukur. Selanjutnya larutan yang dibuat untuk uji aktivitas antioksidan yaitu ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* di pipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 0,5, 0,6 dan 0,7 mg/L dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH kedalam masing-masing konsentrasi dan di vortex selama 5 detik sebanyak 3 kali pengulangan.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C (p.a) ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 10 mL, kemudian buat larutan stok untuk konsentrasi 0,5, 0,6 dan 0,7 mg/L dengan

ditambahkan etanol 95% sampai tanda batas 10 mL pada masing-masing larutan sebanyak 3 kali pengulangan. Sampel vitamin C (p.a) di pipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 0,5, 0,6 dan 0,7 mg/L dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH kedalam masing-masing konsentrasi dan di vortex selama 5 detik sebanyak 3 kali pengulangan. Di uji pada spektrofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan Larutan Kontrol DPPH dan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan kontrol DPPH di uji pada spektrofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Sampel di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas tersebut, di uji pada spektrofotometer. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Di ukur absorbansi pada spektrofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang 517 nm setelah di inkubasi selama 30 menit, berubahnya warna menjadi kuning menunjukkan bahwa, masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Di amati perbandingan dengan vitamin C (p.a) sebagai standar. Kemudian data yang diperoleh dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk tabel. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai presentase berkurangnya aktivitas DPPH dengan menggunakan rumus:

$$\%Inhibisi = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran pada penelitian ini diperoleh absorbansi yang kemudian digunakan untuk perhitungan nilai persen inhibisi senyawa antioksidan terhadap DPPH. Data persen inhibisi ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* dan vitamin C (p.a) sebagai pembanding disajikan pada tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Hasil Perbandingan Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Callyspongia aerizusa* Dengan Vitamin C (p.a)

Konsentrasi Ekstrak dan Vitamin C	Pengulangan			Rata-rata	
	I	II	III		
0,5 mg/L	Ekstrak	55,60 %	57,70 %	56,50 %	56,60 %
	Vitamin C	96,80 %	92,70 %	97,60 %	95,70 %
0,6 mg/L	Ekstrak	56,20 %	57,80 %	57,60 %	57,20 %
	Vitamin C	97,50 %	98,60 %	98,80 %	98,30 %
0,7 mg/L	Ekstrak	58,50 %	58,40 %	58,30 %	58,40 %
	Vitamin C	98,80 %	99,50 %	98,90 %	99,06 %

Untuk mengetahui apakah biota laut terbukti memiliki aktivitas pengikatan terhadap radikal bebas, maka dilakukan uji aktivitas antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat radikal bebas dalam tubuh, serta menghambat terjadinya oksidasi pada sel tubuh, sehingga dapat mencegah atau mengurangi terjadinya kerusakan sel (Ardiansyah, 2007).

Pada penelitian ini, biota laut yang digunakan yaitu spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil dari Pulau Mantehage. Pengolahan sampel dilakukan dengan metode ekstraksi dengan cara dingin yaitu maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan melalui perendaman serbuk bahan alam dalam larutan pengeksrak. Alasan pemilihan metode maserasi karena mempunyai banyak keuntungan dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya. Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai (Heinrich dkk, 2004). Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi adalah etanol 95% karena pelarut ini hampir bisa melarutkan semua senyawa organik baik polar ataupun non polar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Santana dkk

(2009) bahwa etanol merupakan pelarut polar yang digunakan untuk mengekstrak komponen polar suatu bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal. Ekstrak yang diperoleh dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sampel dalam jumlah yang sedikit (Hanani dkk, 2005). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer *UV-Vis*. Pengukuran dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan DPPH pada panjang gelombang antara 400-800 nm. Hasil yang didapat yaitu panjang gelombang 517 nm yang digunakan sebagai panjang gelombang maksimum untuk DPPH.

Larutan yang dibuat untuk uji aktivitas antioksidan diambil dari ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* yang dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH dengan masing-masing konsentrasi 0,5, 0,6 dan 0,7 mg/L kemudian divortex selama 5 detik sebanyak 3 kali pengulangan. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi, kemudian masing-masing ekstrak dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 517 nm. Adanya antioksidan pada sampel ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna menunjukkan adanya reaksi antara kandungan senyawa metabolit yang ada pada ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* dengan radikal bebas DPPH. Hal ini sejalan dengan penelitian Prakash (2001) yang menyatakan bahwa aktivitas reduksi oleh antioksidan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna yang menunjukkan adanya reaksi antara elektron tunggal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen yang didonorkan.

Pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin C (p.a). Vitamin C banyak digunakan sebagai pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan alami yang mempunyai empat gugus karboksil yang mana atom hidrogen pada gugus karboksil mampu mendonorkan elektronnya pada radikal bebas untuk menstabilkan radikal bebas (Praditasari, 2016).

Hasil penelitian pada tabel 1 menunjukkan persentase ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh pada konsentrasi 0,5 mg/L dengan nilai 56,6%, konsentrasi 0,6 mg/L dengan nilai 57,2%, dan konsentrasi 0,7 mg/L dengan nilai 58,4%. Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* menandakan bahwa konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas. Hasil ini didukung oleh penelitian Hanani dkk (2005) yang menyatakan bahwa persentase aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Menurut Parwata dkk (2005) suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila persentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50%.

Hasil pengujian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* dan vitamin C menunjukkan bahwa kemampuan penangkal radikal bebas dari vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa*. Hal ini dikarenakan vitamin C merupakan senyawa murni sedangkan ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* masih merupakan ekstrak kasar (Hanani dkk, 2005).

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* dari Kepulauan Mantehage Kabupaten Minahasa Utara memiliki aktivitas antioksidan disetiap konsentrasi. Aktivitas antioksidan tertinggi terlihat pada konsentrasi ekstrak 0,7 mg/L yang mencapai 58,4%.

SARAN

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol spons *Callyspongia aerizusa* dan dilakukan pengujian antimikroba untuk melihat apakah terdapat aktivitas antimikroba pada spons *Callyspongia aerizusa*.

DAFTAR PUSTAKA

Ardiansyah. 2007. *Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan*. Artikel IPTEK.

De Voogd, N. J., Haftka, J. J. H., Hoeksema, B. W., 2005. *Evaluation Of The Ecological Of Amphitoxin In The Reef-Dwelling Sponge Callyspongia (Euplacella) Biru (Haploscerida) At South Sulawesi, Indonesia*.

Fukami, A., Ikeda, Y., Kondo, S., Naganawa, H., Takeuchi, T., Furuya, S., Hirabayashi, Y., Shimoike, K., Hosaka, S. 1997. *Akartepin, A Novel Bioactive Tripenone From Marine Sponge Callyspongia Sp*, *Zoology*, **7 (38)**: 1201-1202.

Gray, C. A., De Lira, S. P., Silva, M., Pimenta, E. F., Thienmann, O. H., Oliva, G., Hajdu, E., Andersen, J. A., Berlinck, R. G. S., 2006. *Sulfated Meroterpenoids from Brazilian Sponge Callyspongia Sp*, *Org.Chem*, **71 (23)**: 8685-8690.

Hanani, E, Mun'im A, Sekarini, R, dan Wiryowidagdo, S. 2005. Uji aktivitas antioksidan beberapa spons laut dari kepulauan Seribu, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. **5(1)**: 127-133.

Heinrich, Michael., Barnes, Joanne., Gibbons, Simon., Williamso, Elizabeth M. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi*. Hungary: Elsevier.

Mbaoji, F. N., Ezike, A. C., Nworu, C. S., Onyeto, C. A., Nwabunike, I. A., Okoli, I. C., & Akah, P. A. 2016. *Antioxidant And Hepatoprotective Potentials Of Stemonocoleus Micranthus Harms (Fabaceae) Stem Bark Extract*. **8(7)**: 47-51.

Poumorad, F., S. J. Hosseinimehr, and N. Shahabimajd. 2006. Antioxidant activity phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. **11**: 1142-1145.

- Prakash, A., 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories : Analytical Progres. **19(2)**: 1–4.
- Praditasari, A. 2016. *Metode Uji Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Pada Tanaman Ekstrak*. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran
- Sari, N.I., Ahmad A., Dali S. 2014. *Isolasi dan karakterisasi protein bioaktif dari spons *Callyspongia sp.* sebagai zat antioksidan*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Santana, C.M., Z.S. Ferrera, M.E.T. Padron, and J.J.S. Rodriquez. 2009. Methodologies for The Extraction of Phenolic Compounds from Enviromental Samples : New Approaches. *Molecules*. **14**: 298-320.
- Suparno. 2005. Kajian Bioaktif Spons Laut (porifera: Demospongiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia Dalam Dibidang Farmasi. *Jurnal Perikanan Indonesia*. **24(21)**: 41-45.