

***ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF SPONGE EXTRACT *Aaptos aaptos*
FROM MANADO BAY***

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS *Aaptos aaptos* DARI
TELUK MANADO SULAWESI UTARA**

Fitriawati Tongkali^{1)*}, Adithya Yudistira¹⁾, Elly Suoth¹⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*fitriawatitongkali@gmail.com

ABSTRACT

*The *Aaptos aaptos* sponge is found under the sea and this sponge contains active compounds whose percentage of activity is greater than the compounds produced by land plants. This study aimed to examine the antioxidant activity of *Aaptos aaptos*. This research is a laboratory experiment by testing the ethanolic extract of the sponge *Aaptos aaptos* using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrihydrazil) method to test the antioxidant activity measured using a UV-Vis Spectrophotometer with various concentrations of 10,15,20 and 25. Sponge *Aaptos aaptos* was obtained by maceration using 95% ethanol as solvent. The results of the average % inhibition value obtained were 77.8% (10mg/L); 81.1% (15mg/L); 84% (20mg/L); and 85.4% (25mg/L). The highest antioxidant activity was found at a concentration of 25mg/L with an average % inhibition value of 85.4%. This indicates that the ethanolic extract of the *Aaptos aaptos* sponge has high antioxidant activity.*

Keywords: Antioxidant, DPPH, Sponge *Aaptos aapto*, Manado Bay.

ABSTRAK

Spons *Aaptos aaptos* terdapat dibawah laut dan spons ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antioksidan dari *Aaptos aaptos*. Penelitian ini merupakan ekperimental laboratorium dengan pengujian terhadap ekstrak etanol spons *Aaptos aaptos* dengan metode DPPH (1,1-diphenil-2-pikrihidrazil) untuk menguji aktivitas antioksidan yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan variasi konsentrasi 10,15,20 dan 25. Ekstrak spons *Aaptos aaptos* diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Hasil nilai % inhibisi rata-rata yang didapat yaitu 77,8% (10mg/L); 81,1% (15mg/L); 84% (20mg/L); dan 85,4% (25mg/L). Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada konsentrasi 25mg/L dengan nilai % inhibisi rata-rata 85,4%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol spons *Aaptos aaptos* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Spons *Aaptos aaptos*, Teluk Manado.

PENDAHULUAN

Terdapat berbagai banyak zat bioaktif yang ditemukan pada bakteri laut, invertebrata, dan alga pada era tahun 1980-an dan 1990-an. Berbagai zat aktif yang diisolasi pada rumput laut, yaitu seperti polisakarida, asam lemak, protein, fenolik, terpena yang dapat menunjukkan signifikan aktivitas anti tumor, anti bakteri, anti virus, dan anti oksidatif (Yong Li *et al.*, 2018).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan atau meredam radikal bebas, serta menghambat terjadinya oksidasi pada sel tubuh, sehingga dapat mencegah atau mengurangi terjadinya oksidasi pada sel tubuh dan terjadinya kerusakan sel (Hanani, 2006).

Spons *Aaptos aaptos* mempunyai nilai ekonomis karena spons dari genus yang dapat menghasilkan senyawa khusus yaitu aaptamine yang dapat digunakan dalam bidang farmasi. Spons laut ini terbagi atas dua bagian yaitu secara eksternal berwarna ungu kemerahan dan secara internal kuning kecoklatan. Pada spesimen intertidal, permukaannya berisi butiran-butiran yang kecil, berkulit, atau halus sedangkan spesimen sublittoral kelihatan seperti bongkahan-bongkahan yang tidak beraturan. Dimensi tubuhnya mempunyai ukuran tinggi 1,0 – 9,0 cm, lebar 4,2 – 4,8 cm, ketebalan dapat mencapai 1,2 cm. Oskulanya kecil dan melimpah yang terdapat dibagian tengah apical pada spons dengan diameter 3,0 – 4,0 mm. Rangkanya tersusun secara radial dengan system spikula yang kuat (Bergquist, 1968).

Metode peredaman radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) adalah metode uji antioksidan yang digunakan pada penelitian ini. Metode ini memerlukan sedikit sampel, sederhana, mudah, cepat dan peka untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Hanani *et al.*, 2005)

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, peneliti menganggap bahwa penelitian tentang “Uji Aktivitas Antioksidan Spons *Aaptos aaptos* Dari Teluk Manado” perlu dilakukan.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2021 – Juni 2021 di Laboratorium Penelitian Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yaitu eksperimental laboratorium dengan sampel penelitian spons *Aaptos aaptos* yang diambil dari Teluk Manado dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95% lalu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *scuba diving*, *cool box*, peralatan gelas (*Pyrex*), pipet tetes, timbangan digital, evaporator, mikro pipet dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu sampel *Aaptos aaptos*, etanol 95%, serbuk DPPH (*1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl*) dan serbuk Vitamin C sebagai pembanding.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari teluk Manado. Sampel diambil dengan menggunakan alat bantu (*Scuba diving*). Setelah diambil sampel di masukan dalam kantong plastik jepit yang sudah di siapkan dan di simpan dalam kotak pendingin lalu dibawah ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi Manado.

Preparasi Sampel

Spons *Aaptos aaptos* yang sudah di ambil di cuci dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang menempel, lalu dipotong kecil-kecil dan langsung dimasukkan kedalam wadah botol yang berisi pelarut etanol 95% sebanyak 200 mL.

Ekstraksi

Sampel *Aaptos aaptos* sebanyak 150 g dimaserasi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 200 mL dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam. Kemudian sampel disaring untuk mendapatkan filtrat. Hasil yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan oven sehingga menghasilkan ekstrak kental dari sampel. Ekstrak kental yang didapatkan disaring kembali dalam oven pemanas untuk mendapatkan ekstrak kasar dari sampel tersebut. Penyaringan dilakukan untuk menghilangkan sisa garam pada ekstrak kental.

Pembuatan Larutan Stok

Ekstrak *Aptos aptos* sebanyak 100 mg dilarutkan kedalam etanol 95% sampai 100 mL. Kemudian dilakukan pengenceran dengan masing-masing konsentrasi 10,15, 20, dan 25 mg/L, dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$V1.M1 = V2.M2$$

Hasil V1 yang didapatkan dari masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan dengan etanol 95% sehingga mencapai tanda batas 10 mL, selanjutnya ditutup menggunakan *aluminium foil*.

Pembuatan Larutan DPPH

DPPH 4 mg dilarutkan dalam etanol 95% sampai 100 mL, kemudian larutan stok DPPH dilakukan pengujian kontrol, di uji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C sebanyak 10 mg dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 10 mL, kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 10, 15, 20 dan 25 mg/L. Masing masing konsentrasi ditambahkan dengan etanol 95% sampai tanda batas 10 mL dan dibuat sebanyak 3 kali pengulangan. Setelah pengujian sampel dengan pengujian kontrol dilanjutkan pengujian vitamin C pada masing masing konsentrasi sampel vitamin C dipipet sebanyak 2 mL, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH. Kemudian di vortex selama 5 detik dan diinkubasi selama 30 menit. Sampel diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

Pengujian Larutan Kontrol DPPH Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Larutan kontrol DPPH diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas tersebut, diuji pada spektrofotometer. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Diukur absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm setelah diinkubasi

selama 30 menit berubahnya warna menjadi kuning menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas diuji dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Kemudian diamati perbandingan dengan vitamin C p.a sebagai standar. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai presentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus :

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan diuji pada spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengujian disajikan pada tabel 1.

Pembahasan

Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah Spons *Aptos Aptos* yang diambil di perairan Teluk Manado. Pada saat sampel akan dibawah ke laboratorium, sampel dimasukkan kedalam *cool box* yang berisi es batu agar tidak terkena matahari secara langsung.

Sebelum dilakukan proses ekstraksi, sampel yang telah didapat langsung dibersihkan dari pengotor, lalu dipotong kecil-kecil kemudian langsung dimasukkan ke dalam botol yang berisi pelarut etanol 95%. Sifat kelarutan dari pelarut dan komponen yang akan dilarutkan merupakan dasar dari penambahan pelarut pada suatu bahan. Dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Pelarut ini dipilih karena mempunyai sifat selektif, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan, ekonomis, mampu mengekstrak dan menyari sebagian besar kandungan senyawa yang ada dalam simplisia. Sampel dipotong kecil kecil dikarenakan semakin kecil ukuran sampel, interaksi sampel dengan pelarut semakin besar.

Determinasi

$$\%inhibisi = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Identifikasi Spons *Aptos aptos* bertujuan untuk mengetahui apakah sampel yang diambil dari perairan Teluk Manado sudah selesai. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Program Studi Farmasi Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sam Ratulangi Manado.

Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi Spons *Aaptos aaptos* dengan menggunakan metode maserasi sedangkan pelarut yang digunakan untuk sampel tersebut adalah etanol 95% karena pelarut ini bisa melarutkan semua senyawa organik baik polar atau non polar. Remaserasi atau pengulangan dilakukan agar senyawa kimia didalam sampel dapat terekstrak secara menyeluruh. Filtrat 1, 2 dan 3 yang diperoleh dicampurkan menjadi satu. Hasil filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan oven selama 1 x 24 jam. Evaporasi bertujuan untuk proses pengentalan larutan dengan cara mendidihkan atau menguapkan pelarut (Poedjiadi,1994). Setelah dioven dihasilkan ekstrak kental sebanyak 16,7 g yang berwarna hitam. Ekstrak spons *Aaptos aaptos* ini akan digunakan dalam uji aktivitas antioksidan.

Uji aktivitas pada penelitian ini menggunakan metode DPPH (*1,1- difenil-2- pikrilhidrazil*) karena metode ini paling sederhana, mudah digunakan semua orang, serta hasilnya akurat. DPPH yang merupakan suatu molekul radikal bebas dengan warna ungu dapat berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning oleh reaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Pada uji ini panjang gelombang maksimum pada DPPH tersebut adalah 517 nm, pengukuran absorbansi pada larutan DPPH menggunakan panjang gelombang 400 sampai 600 dan hasil yang didapat pada absorbansi DPPH adalah 0,707. Konsentrasi yang digunakan yaitu 10,15,20 dan 25 mg/L. Hasil dari ekstrak dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan sebanyak 3 kali pada setiap konsentrasi (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Tabel 1. Hasil perbandingan pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Aaptos aaptos*

Konsentrasi		Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III	Rata-rata
10 mg/L	Ekstrak	78,5%	76,3%	78,7%	77,8%
	Vit C	95,2 %	95,3%	95,2%	95,2%
15 mg/L	Ekstrak	80,6%	82,5%	80,3%	81,1%
	Vit C	95,3%	95,2%	95%	95,1%
20 mg/L	Ekstrak	83%	84%	85,1%	84%
	Vit C	95,2%	95,5%	95,6%	95,4%
25 mg/L	Ekstrak	83,2%	87%	86%	85,4%
	Vit C	95,1%	95,5%	95,6%	95,4%

Hasil penelitian yang didapatkan (Tabel 1) nilai persen inhibisi pada ekstrak etanol Spons *Aaptos aaptos* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan ekstrak tersebut mengalami peningkatan dari konsentrasi 10 mg/L dengan nilai rata-rata 77,8%, konsentrasi 15 mg/L 81,1 %, konsentrasi 20 mg/L 84 %, konsentrasi 25 mg/L 85,45%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak maka absorbansi semakin meningkat dan tingkat inhibisinya akan semakin naik. Absorbansi sampel bisa turun karena elektron pada DPPH berpasangan dengan elektron sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu pekat jadi kuning bening. Kondisi diatas menunjukkan sama dengan pernyataan Green (2004), bahwa nilai tingkat inhibisi akan meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel dikarenakan semakin banyak senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas.

Hasil pengujian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol Spons *Aaptos aaptos* dan vitamin C menunjukkan bahwa kemampuan penangkal radikal bebas pada vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol spons *Aaptos aaptos*. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkal radikal bebas dan jika mempunyai polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Triyem, 2010). Vitamin C juga merupakan senyawa murni yang jika dibandingkan dengan ekstrak spons *Aaptos aaptos* yang terdiri dari beberapa campuran senyawa lain (Pratiwi *et al.*, 2013). Pada vitamin C aktivitas antioksidannya sangat tinggi, mudah diperoleh dan vitamin C lebih polar dari vitamin yang lain (Isnindar *et al.*, 2011).

Menurut Yu *et al.*, (2014), kadar yang terdapat pada *Aaptos aaptos* memiliki potensi bioaktif, spesies ini memiliki senyawa metabolit sekunder berupa *aaptamine* yang memiliki aktivitas sebagai antifungi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol spons *Aaptos aaptos* dari perairan Teluk Manado memiliki aktivitas antioksidan yang kuat pada setiap konsentrasi dan aktivitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 25 mg/L dengan nilai rata-rata inhibisi 85,4%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol spons *Aaptos aaptos* dengan konsentrasi lebih besar dari 25mg/L dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode lain seperti antimikroba kemudian membandingkan hasilnya dengan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Berquist PR. 1968. *The Marine Fauna of New Zealand : Porifera, Demospongiae Part I (Tetractinopomorpha and Lithistida)*. New Zealand Department of Scientific and Industrial Research. New Zealand Oceanographic Institute Memoirs No. 37.
- Green, R.J. 2004. Antioxidant Activity Of Peanut Plant Tissues. North caroline state university departemen of food science, Raleigh.
- Hanani E, Mun'im B, Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*2 (3) : 127-133.
- Hanani, E, Mun'im A, Sekarini, R, dan Wiryowidagdo, S. 2006. Uji aktivitas antioksidan beberapa spons laut dari kepulauan Seribu, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. Vol 5 No (1).
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* Thumb) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. Vol 16 No (3).
- Poedjiadi, A. 1994. Dasar-dasar Biokimia. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pratiwi, D., Wahdaningsih, S., & Isnindar. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (*Eleutherine americana* Merr) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Traditional Medicine Journal*. Vol 18 No (1).

Triyem. 2010. Aktivitas Antioksidan dari Kulit Batang Manggis Hutan (Garcinia cf. Bancana Miq.) [Tesis]. Universitas Indonesia, Jakarta.

Yong Li, Siqi Sun, Xiaowei Pu, Yuzhe Yang, Fei Zhu, Shouyu Zhang and Nianjun Xu. 2018. *Evaluation of Antimicrobial Activities of Seaweed Resouerces from Zhejiang Coast, China*. Sustainability. 10 (7).

Yu, H. B., Yang, F., Sun, F., Li, J., Jiao, W. H., Gan, J. H., Hu, W. Z., Lin, H. W. 2014. Aaptamine Derivatives with Antifungal and Anti-HIV-1 Activities from the South China Sea Sponge Aaptos aaptos. *Mar. Drugs*.12 : 6003–6013.