

***ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT SPONGE *Stylissa carteri*
COLLECTED FROM MANADO BAY***

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS *Stylissa carteri* YANG
DIKOLEKSI DARI TELUK MANADO**

Christo Togelang¹⁾, Adithya Yudistira¹⁾, Erladys M. Rumondor¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*togelangchrissto36@gmail.com

ABSTRACT

*Sea sponges have enormous bioactive potential. The research was to identify the antioxidant and ethanol sponge ethanol *Stylissa carteri* collected from the mando bay. The study is an experimental laboratory that will test the antioxidant activity of collected *Stylissa carteri* sponge extract from manado bay. The findings suggest the antioxidant activity of the *Stylissa carteri* sponge obtained from manado bay has antioxidant activity and the higher the concentration of it increases. The most high antioxidant activity found on the *Stylissa carteri* spong with a concentration of 25 ppm.*

Keywords: *Antioxidant, DPPH, *Stylissa carteri*, Manado Bay*

ABSTRAK

Spons laut memiliki potensi bioaktif yang sangat besar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* yang dikoleksi dari Teluk Mando. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium yang akan menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak spons *Stylissa carteri* yang dikoleksi dari teluk Manado. Hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas antioksidan dari spons *Stylissa carteri* yang diperoleh dari Teluk Manado memiliki aktivitas antioksidan dan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula kadar antioksidan yang dihasilkan. Aktivitas antioksidan yang paling tinggi terdapat pada Spons *Stylissa carteri* dengan konsentrasi 25 ppm.

Kata Kunci : *Antioksidan, DPPH, *Stylissa carteri*, Teluk Manado*

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara yang sangat kaya dengan sumber daya alam yang melimpah dengan luas lautannya terdiri dari 5,8 juta km² atau sekitar 70% dari luas total wilayah Indonesia. Wilayah lautan Indonesia terdapat berbagai macam spesies laut baik tumbuhan maupun hewan. Salah satu invertebrate yang jumlahnya sangat banyak dilautan Indonesia ialah spons. Spons laut memiliki potensi bioaktif yang sangat besar. Selama 50 tahun terakhir telah banyak kandungan bioaktif yang ditemukan. Kandungan bioaktif tersebut dikelompokkan kedalam kelompok yang sangat besar seperti antiinflamatory, antitumor, antivirus, antimalarial dan antibiotik (Rasyid, 2009).

Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang bekerja dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat reaksi oksidasi. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel atau jaringan, penyakit degeneratif serta kanker (Sutrisna, 2013). Radikal bebas didalam tubuh manusia berperan dalam patologi dari berbagai penyakit degeneratif yakni jantung coroner, aterosklerosis, kanker, rematik, katarak dan penyakit degenerasi saraf seperti parkinson (Silalahi, 2006).

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, Mun'im dan Sekarini, 2005). Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, peneliti menganggap bahwa penelitian tentang “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Stylissa carteri* Yang Dikoleksi Dari Teluk Manado” perlu dilakukan.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai September 2021 di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi

Bentuk Penelitian

Bentuk dari penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yang akan menguji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dari ekstrak spons *Stylissa carteri* yang dikoleksi dari teluk Manado.

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *scuba diving*, kamera, gunting, pisau, wadah botol, kertas saring, ziplok, sarung tangan, telenan, spatula, alat-alat gelas (Iwaki ST Pyrex®), timbangan digital (AE Adam®), mikropipet, spektrofotometer UV-Vis, *aluminium foil*, Vortex (Mixer Hwashin), evaporator.

Bahan

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

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel ini diambil di teluk Manado, Sulawesi Utara menggunakan alat bantu *scuba diving*. 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 dibawa ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Preparasi Sampel

Sampel spons *Stylissa carteri* yang sudah di ambil dicuci kembali dan dipotong-potong kecil lalu dimasukkan kedalam wadah botol, sampel yang di dalam botol diisi dengan etanol 95% sebanyak 200 mL.

Ekstraksi

Sampel spons *Stylissa carteri*. sebanyak 140 g di maserasi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 200mL dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam dengan sesekali di kocok. Hasil dari maserasi kemudian di saring untuk

mendapatkan hasil filtrat, kemudian hasil filtrat yang di dapatkan dari 3 kali pengulangan di uapkan menggunakan rotary evaporator sehingga menghasilkan ekstrak kental dari sampel, lalu di taruh di cawan petri dan di masukan kedalam oven pemanas untuk mendapatkan ekstrak kasar dari sampel spons *Stylissa carteri*.

Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm

Sebanyak 100 mg ekstrak spons *Stylissa carteri* dilarutkan dalam 100 mL etanol 95%. Dengan masing-masing konsentrasi 10, 15, 20, dan 25 ppm, dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

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 selanjutnya.

Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 4 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 100 mL, dan buat larutan stok DPPH sesuai konsentrasi yang sama dengan konsentrasi pada larutan stok sebelumnya yaitu 10, 15, 20, dan 25 ppm. Masing-masing konsentrasi, ditambahkan etanol sampai tanda batas (10 mL). Selanjutnya larutan yang di buat untuk uji aktivitas antioksidan yaitu ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* di pipet sebanyak 0,5 mL dimasukan kedalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 10, 15, 20, dan 25 ppm dan di tambahkan 1,5 mL larutan DPPH kedalam masing-masing konsentrasi dan divortex selama 2 detik. Sampel dibuat sebanyak 3 kali pengulangan.

Pembuatan Larutan Vitamin C

Vitamin C p.a ditimbang sebanyak 10 mg. Kemudian, vitamin C p.a dilarutkan dalam etanol p.a sebanyak 10 mL, buat larutan stok dengan konsentrasi yang sama, yaitu konsentrasi 10, 15, 20, dan 25 ppm dengan ditambahkan masing-masing larutan dengan etanol p.a mencapai tanda batas (10 mL), dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing-masing konsentrasi. Sampel vitamin C p.a diuji pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm..

Pengujian Larutan Kontrol DPPH dan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan kontrol DPPH diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam pengujian ini. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. 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. Kemudian diamati perbandingannya dengan vitamin C p.a sebagai standar. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan rumus:

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas, dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengujian disajikan pada tabel dibawah ini:

Tabel 1. Hasil perbandingan pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol spons *Stylissa carteri* dengan Vitamin C *p.a*

| Konsentrasi Ekstrak dan Vitamin C | | Pengulangan | | | rata-rata |
|--------------------------------------|-----------|-------------|--------|--------|-----------|
| | | I | II | III | |
| 10 ppm | Ekstrak | 66,1 % | 61,6 % | 64,8 % | 64,1 % |
| | Vitamin C | 95,2 % | 95,3 % | 95,2 % | 95,2 % |
| 15 ppm | Ekstrak | 65 % | 65 % | 64,7 % | 64,9 % |
| | Vitamin C | 95,3 % | 95,2% | 95 % | 95,1 % |
| 20 ppm | Ekstrak | 69,4 % | 65,3 % | 69,6 % | 68,1 % |
| | Vitamin C | 95,2 % | 95,5% | 95,6 % | 95,4 % |
| 25 ppm | Ekstrak | 72,9 % | 71,3 % | 70,6 % | 71,6 % |
| | Vitamin C | 95,1 % | 95,5 % | 95,5 % | 95,4 % |

Pembahasan

Spons merupakan biota laut yang hidup menetap di dasar perairan, yang memiliki peran yang cukup penting di dalam ekosistem terumbu karang. Selain itu 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 contohnya pada biota laut spons *Stylissa carteri* (Rachmaniar, 1998).

Ekstraksi pada spons *Stylissa carteri* menggunakan metode maserasi. Metode ini digunakan untuk mengekstrak zat aktif yang mudah larut dalam cairan pengekstrak, dimana sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu, waktu yang digunakan untuk perlakuan ini selama 24 jam untuk 3x pengulangan dengan sampel sebanyak 140 g. Keuntungan dari ekstraksi dengan metode maserasi adalah peraatannya yang mudah ditemukan dan pengerjaannya yang sederhana, biaya operasionalnya relatif rendah dan prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan.

Pembuatan larutan stok dengan menggunakan konsentrasi 10, 15, 20, dan 25 ppm. Pada penelitian ini dilakukan pengujian dengan 3 kali pengulangan pada konsentrasi tersebut. Pembuatan larutan stok harus

memperhatikan daya simpan larutan karena apabila larutan sudah mengalami pengendapan tidak dapat digunakan lagi. Pengendapan larutan stok umumnya terjadi bila kepekatan larutan terlalu tinggi.

Tujuan dari pembuatan larutan stok sendiri ialah untuk menghindari penimbangan yang berulang-ulang, dimana penimbangan berulang-ulang ini lebih membutuhkan banyak waktu. Selanjutnya tinggal mengencerkan larutan stok saja larutan stok dibuat hanya untuk satu jenis bahan. Langkah ini bertujuan untuk menghindari pengendapan larutan.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), karena merupakan metode yang paling sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor electron (Molyneux, 2004).

Uji DPPH digunakan panjang gelombang 517 nm, dengan menimbang sebanyak 4 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 100 mL, larutan DPPH tersebut diukur pada panjang gelombang 400 sampai 600 nm dan hasil absorbansi yang didapat adalah 0,874. Selanjutnya larutan yang di buat untuk uji aktivitas antioksidan yaitu ekstrak etanol spons *Stylissa carteri*. di pipet sebanyak 0,5 mL dimasukan kedalam tabung reaksi dengan masing-masing konsentrasi 10, 15, 20 dan 25 ppm dan di tambahkan 1,5 mL

larutan DPPH kedalam masing-masing konsentrasi dan divortex selama 5 detik.

Penelitian ini menggunakan vitamin C p.a sebagai Pembanding untuk kontrol positif sampel spons *Stylissa carteri* karena berfungsi sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas, mencegah terjadinya reaksi berantai, aktivitas antioksidannya sangat tinggi, mudah diperoleh dan vitamin C lebih polar dari vitamin yang lain. Vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas.

Sebelum memasuki pengujian dengan alat spektrofotometer UV-Vis, sampel spons *Stylissa carteri* dan larutan sampel vitamin C p.a diinkubasi terlebih dahulu dengan cara menutup sampel dengan aluminium foil selama 30 menit. Spektrofotometer umum digunakan karena kemampuannya dalam menganalisa begitu banyak senyawa kimia serta kepraktisannya dalam hal preparasi sampel apabila dibandingkan dengan beberapa metode analisa. Spektrofotometri UV/Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar saat analisis, sehingga spektrofotometer UV/Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibanding kualitatif. Spektrofotometri UV-vis adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200 –350 nm) dan sinar tampak (350 – 800 nm) oleh suatu senyawa

Konsentrasi 10, 15, 20 dan 25 ppm hasil pengukuran aktivitas antioksidan pada larutan sampel spons *Stylissa carteri* menunjukkan bahwa spons *Stylissa carteri* memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi hal ini dapat dilihat pada (Tabel 1) dengan rata-rata 64,1% di konsentrasi 10 ppm, 64,9% di konsentrasi 15 ppm, 68,1% di konsentrasi 20 ppm dan yang paling besar di konsentrasi 25 ppm yaitu sebesar 71,6% perbanding dengan aktivitas pada konsentrasi sampel spons *Stylissa carteri* dengan kontrol positif dari sampel vitamin C yang tinggi hal ini dapat dilihat pada (tabel 1) dengan rata-rata 95,2% di konsentrasi 10 ppm, 95,1% di konsentrasi 15 ppm dan 95,4% di masing-masing konsentrasi 20 ppm dan 25 ppm. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada (Tabel 1) menunjukkan bahwa pengukuran persen inhibisi pada ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* memiliki aktivitas antioksidan dan mengalami peningkatan dari konsentrasi 10 mg/L sampai

dengan 25 ppm. Pada ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* dengan konsentrasi 25 ppm memiliki persen inhibisi rata-rata paling tinggi yaitu sebesar 71,6% Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* menandakan bahwa konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam merendam radikal bebas. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Hanani *et al.*, (2005) sebagai jurnal pembanding yang menyatakan bahwa presentasi penghambat atau persen inhibisi terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Hasil pengujian perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak spons *Stylissa carteri* dan vitamin C (Tabel 1) juga menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* yang dikoleksi dari Teluk Manado memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antioksidan yang paling tinggi terdapat pada Spons *Stylissa carteri* dengan konsentrasi 25 ppm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam spons *Stylissa carteri* dengan konsentrasi lebih kecil dan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode yang berbeda untuk membandingkan hasilnya dengan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- David Pakaya, 2014. Peranan Vitamin C Pada Kulit. Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tadulako, Tadulako. *MEDIKA TADULAKO, Jurnal Ilmiah Kedokteran*, Vol.1 No.2 Mei 2014.
- Handbook Spectrofotometry. (2017). www.gelifesciences.com, [19 April 2017]
- Hendra, H., Yudistira, A., Sumantri, S., (2020). Evaluasi Aktivitas Antioksidan

- Ekstrak Etanol Spons *Aplysina sp.* Dipesisir Pantai Lembeh Kota Bitung. *Pharmacoon*, 9(3), 458–460.
- Gozcelioğlu, B., Konuklugil, B., 2012, Qualitative Detection of Some Secondary Metabolites from Three Turkish Marine Sponges, *Fabard J. Pharm. Sci.*, **37**: 73-78.
- 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. Jurnal (Endang Hanani).
- Houghton PJ and Raman. 1998. *Laboratory Handbook for The Fractination of Natural Extract*. Chapman and Hall, London, UK.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis Retrofracti Fructus*). [Skripsi]. UIN Jakarta.
- Membri, D.K., Yudistira, A., Sumantri, S. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Liosina paradoxa* Yang Dikoleksi Dari Pulau Mantehage. *Pharmacoon*, 10(2), 775–777.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radikal *diphenyl picrylhydrazyl* (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technology*. **24**(2); 211-219.
- Pabel, C. T., Joachim, V., Wilde, C., Franke, P., Hofemeister, J., Adler, B., Bringmann, G., Hacker, J., and Hentschel, V. 2003. *Antimicrobial activities and matrix assisted laser desorption/ ionization mass spectrometry of Bacillus isolated from the marine spons Aplysina aerophoba*. Marine Biotechnology.
- Percival.M. 1998. *Antioxidants*. [terhubung berkala]http://acudoc.com/Antioxidant_s.pdf [19 Feb 09].
- Prayoga G. 2013. Fraksinasi Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis Lour*). Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia.
- Pratimasari, D. 2009. “Uji Aktivitas Penangkap Radikal Buah Carica Papaya L. Dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenolik Serta Flavonoid Totalnya”. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rasyid, A. 2009. Senyawa-senyawa bioaktif dari Spons Oseana. Hlm 25-32. Schlagel.G.H. 1993. General Microbiologi seventh edition. Cambrige University Press.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Kanisius. Jogjakarta.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Sutrisna. 2013. *Penyakit Degeneratif*. Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Turak, F., Dinç, M., Dülger, Ö. & Özgür, M.U. (2014). Four derivative spectrophotometric methods for the simultaneous determination of carmoisine and ponceau 4R in drinks and comparison with high performance liquid chromatography. *International Journal of Analytical Chemistry*. 2014: 650465.
- Winarsi, Hery. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta : Kanisius; p. 11, 13, 15, 77-78, 137-138..