

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF *Lamellodysidea herbacea* SPONGES ETHANOL EXTRACT OBATAINED FROM MINAHASA REGENCY SOUTH BEACH

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS *Lamellodysidea herbacea* YANG DIPEROLEH DARI PANTAI SELATAN KABUPATEN MINAHASA

Christian A. Lanes¹⁾, Adithya Yudistira¹⁾, Meilani Jayanti¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado
Laneschristian007@gmail.com

ABSTRACT

The Sponge are marine organism that have potential to produce secondary metabolites that have many benefits. One of secondary metabolites function is as antioxidants. Antioxidants are substances that can inhibit the oxidation process that caused by free radicals. This study aimed to analyze the antioxidant activity of Lamellodysidea herbacea sponge obtained from Minahasa Regency South Beach. This research is a laboratory experiment with extraction method is used maceration with ethanol 95% as solvent. Antioxidant test is using DPPH (1.1-difenil-2-pikrihidrazil) method with 4 series solution concentration (25, 50, 75, 100 ppm) which was measured with UV-Vis spectrophotometer with the absorbance value is measured at 517 nm. The results of the study were obtained average percent inhibition of concentration 25, 50, 75, 100 ppm is 40,068%, 51,446%, 65,25%, 70,369%, respectively. This study concluded Lamellodysidea herbacea sponge had antioxidant activity at 50, 75, and 100 ppm concentration.

Keywords: Antioxidant, DPPH, *Lamellodysidea herbacea*

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu organisme laut yang mempunyai potensi untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai banyak manfaat. Salah satu fungsi dari metabolit sekunder adalah sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi yang diakibatkan oleh radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari spons *Lamellodysidea herbacea* yang diperoleh dari Pantai Selatan Kabupaten Minahasa. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH (1.1-difenil-2-pikrihidrazil) dengan 4 seri konsentrasi sampel (25, 50, 75, 100 ppm) yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Hasil penelitian diperoleh rata-rata nilai persen inhibisi yang didapat pada konsentrasi 25, 50, 75, 100 ppm secara berturut-turut adalah 40,068%, 51,446%, 65,25%, 70,369%. Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak spons *Lamellodysidea herbacea* mempunyai aktivitas antioksidan pada konsentrasi 50, 75, dan 100 ppm.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, *Lamellodysidea herbacea*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah senyawa reaktif yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya yang membuatnya memiliki sifat yang tidak stabil dan sangat reaktif. Apabila kadarnya melebihi kemampuan antioksidan alami yang ada didalam tubuh manusia dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang merupakan penyebab dari beberapa penyakit degeneratif seperti kanker, rematik, jantung koroner, katarak dan parkinson (Rumagit *et al.*, 2015; Pratama *et al.*, 2020).

Antioksidan merupakan zat yang mencegah atau menghambat proses oksidasi yang diakibatkan oleh radikal bebas. Antioksidan berfungsi untuk melindungi komponen-komponen biologis seperti DNA, vitamin, lipid, dan protein dari proses oksidasi yang diakibatkan oleh radikal bebas. (Rumagit *et al.*, 2015; Prins *et al.*, 2022). Antioksidan dalam sel dapat dibagi menjadi antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru contohnya adalah *superoksida dismutase* (SOD), katalase dan *glutathion peroksidase* (GSH-Px) dan antioksidan nonenzimatis adalah antioksidan yang berfungsi memotong atau menghambat reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas contohnya adalah glutathione pada sitoplasma, bilirubin dalam darah, koenzim Q dan melatonin. Terdapat juga senyawa-senyawa yang berasal dari tumbuhan seperti vitamin C, beta karoten, flavonoid, dan albumin (Rosi *et al.*, 2017; Nurmajid *et al.*, 2017).

Sebagai negara kepulauan terbesar di dunia dan juga dengan luas garis pantai yang mencapai 54.716 km membuat Indonesia mempunyai biodiversitas laut terbesar di dunia karena terdapat ekosistem pesisir dan laut yang khas seperti hutan mangrove dan terumbu karang dengan produk alami yang memiliki aktivitas biologis dengan struktur yang beragam dan memiliki aktivitas farmakologis seperti antimikroba, antikanker, antivirus, antiinflamasi, dan menghambat aktivitas enzim (Zainul *et al.*, 2017; Sumilat *et al.*, 2017).

Spons merupakan hewan dengan tubuh sederhana yang tersusun dari serat yang dilaporkan mempunyai manfaat seperti antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan antimalaria (Prins *et al.*, 2022). Menurut hasil penelitian dari Rumagit *et al* (2015) spons *Lamellodysidea herbacea* yang diambil dari Pantai Malalayang, Manado mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin yang bersifat

antioksidatif. Ekstrak dari spons *Lamellodysidea herbacea* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Hal ini disebabkan karena aktivitas antioksidan yang kuat yang dapat menekan proses proliferasi sel kanker dengan cara menutup jalur pembentukan sel kanker (*blocking agent*) (Sumilat *et al.*, 2017).

Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan dan aman dalam mengekstraksi sampel karena tidak memerlukan suhu yang tinggi dalam proses ekstraksinya sehingga membuat senyawa yang tidak tahan panas tidak akan rusak selama proses ekstraksi. Etanol merupakan pelarut universal yang mampu menarik baik senyawa polar maupun non polar hal ini dipengaruhi oleh sifat kepolaran pelarut etanol (Endarnini, 2016; Suhendra *et al.*, 2019).

Berdasarkan hal tersebut akan dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi spons *Lamellodysidea herbacea* yang di ambil dari Pantai Selatan Kabupaten Minahasa dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil).

METODOLOGI PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental laboratorium untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil).

Alat dan Bahan

Alat

Botol kaca, tabung reaksi (Pyrex®), labu ukur 100 mL (Pyrex®), botol vial 5 mL (SANBE), timbangan digital (Huazhi PTX), mikropipet, spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU UV-Vis 1800), aluminium foil, vortex (Benchmark), *rotary evaporator* (EYELA N-1300S-WB), kantong *ziplock*, *coolbox*, peralatan diving, kamera bawah laut.

Bahan

Sampel menggunakan Spons *Lamellodysidea herbacea* yang diperoleh dari pantai selatan Kabupaten Minahasa yang berlokasi di Desa Poopoh, Kecamatan Tombariri, etanol 95%, aquades, DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil).

Prosedur Penelitian

1. Pengambilan dan Preparasi Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di daerah pantai selatan Kabupaten Minahasa yang terletak

di Desa Poopoh, Kecamatan Tombariri. menggunakan alat bantu scuba diving dan kantong ziplock dengan cara menyelam dan mengambil sampel dalam laut. Dimana sampel difoto dengan kamera bawah laut sebelum diambil dari habitatnya. Setelah diambil, sampel dimasukkan ke dalam kantong *ziplock* dan kemudian disimpan pada *coolbox* lalu dibawa ke Laboratorium penelitian lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Sampel kemudian dicuci kemudian ditimbang (Maukar, 2022).

2. Ekstraksi Sampel Spons *Lamellodysidea herbacea*

Sampel spons *Lamellodysidea herbacea* diekstraksi dengan metode maserasi. Sampel dipotong kecil-kecil lalu dimasukkan ke dalam botol, sampel kemudian direndam dengan etanol 95% hingga semua sampel terendam dengan etanol 95% dan kemudian didiamkan selama 24 jam. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan dipindahkan ke wadah baru. Perendaman dan penyaringan ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental dari spons *Lamellodysidea herbacea* (Maukar, 2022). Timbang hasil ekstrak yang didapat kemudian hitung nilai persen rendemen untuk mengetahui kekuatan ekstraksi zat aktif dari pelarut dengan menggunakan rumus menurut Maukar *et al* (2022) :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100$$

3. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sampel Spons *Lamellodysidea herbacea*

3.1. Pembuatan Larutan Stok Standar dan Seri Pengenceran

Timbang dan Larutkan 10 mg ekstrak etanol *Lamellodysidea herbacea* dengan 10 mL etanol 95% dalam tabung reaksi kemudian divortex. Kemudian buat 4 seri larutan konsentrasi 25, 50, 75, 100 ppm dengan masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak 3 kali (Maukar, 2022).

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus pengenceran menurut Maukar *et al* (2022) :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan :

M_1 = Konsentrasi Awal (g/mL)

V_1 = Volume Awal (mL)

M_2 = Konsentrasi Akhir (g/mL)

V_2 = Volume Akhir (mL)

3.2. Pembuatan Larutan DPPH

Timbang dan larutkan 5 mg DPPH pada 100 mL etanol 95% pada labu ukur kemudian divortex, setelah itu diamkan larutan selama 30 menit dan simpan pada wadah tertutup yang telah dilapisi aluminium foil (Maukar, 2022)

3.3. Pembuatan dan Pengujian Larutan Kontrol DPPH

Campurkan 2 mL etanol 95% dengan 2 mL larutan DPPH Setelah itu uji larutan kontrol DPPH kemudian kocok hingga homogen dan inkubasi selama 30 menit kemudian ukur panjang gelombang dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm sebagai absorbansi kontrol dalam penelitian (Maukar, 2022).

3.4. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Spons *Lamellodysidea herbacea* dengan Metode DPPH

Masukan 2 mL larutan DPPH keseluruhan variasi konsentrasi larutan ekstrak spons *Lamellodysidea herbacea* kemudian didiamkan pada tempat gelap selama 30 menit pada suhu 37°C hingga terjadi perubahan warna, lakukan sebanyak 3 kali repetisi. Kemudian hitung nilai absorbansi dari setiap larutan sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi yang didapat kemudian dipakai sebagai nilai absorbansi sampel (Maukar, 2022). Untuk mencari nilai % inhibisi menggunakan rumus % inhibisi menurut Maukar *et al* (2022) :

$$\% \text{ Inhibisi} = 1 - \frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Setelah dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95% didapatkan karakteristik ekstrak dan nilai

rendemen dan warna yang ditunjukkan pada **Tabel 1.** Setelah dilakukan pengukuran absorbansi pada masing-masing konsentrasi didapat nilai persen inhibisi dengan nilai absorbansi larutan stok DPPH sebesar 0,876 sebagai berikut.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Spons *Lamellodysidea herbacea*

Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Warna
73,5	1,5	2,04	Hijau pekat

Tabel 2. Nilai Persen Inhibisi Setiap Absorbansi

Konsentrasi (ppm)	Nilai Persen Inhibisi (%)			Rata Rata (%)
	R1	R2	R3	
25	42,123	38,356	39,726	40,068
50	54,338	50,685	49,315	51,446
75	64,954	65,525	65,297	65,259
100	66,667	72,374	72,146	70,396

Pembahasan

Jumlah persen rendemen yang didapatkan sebesar 2.04% dimana hasil ini lebih besar 1% jika dibandingkan dengan hasil persen rendemen yang didapatkan oleh Rumagit *et al* (2015) yang mendapat nilai persen rendemen sebesar 1.0% hal ini disebabkan oleh perbedaan tempat sampling sampel dimana perbedaan tempat tinggal dari spons *Lamellodysidea herbacea* dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder yang diproduksinya. Perbedaan kandungan ini dapat mengakibatkan perbedaan daya ekstrak dari pelarut yang digunakan karena perbedaan sifat kepolaran kandungan senyawa yang terkandung didalam spons *Lamellodysidea herbacea* sehingga efektivitas dari pelarut juga akan berubah.

Selain itu faktor perbedaan konsentrasi pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sampel juga berpengaruh karena pada penelitian Rumagit *et al* (2015) menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 96% sedangkan pada penelitian ini menggunakan etanol dengan konsentrasi 95%. Berdasarkan penelitian Suhendra *et al* (2019) menyatakan bahwa perbedaan konsentrasi pelarut etanol yang digunakan saat ekstraksi akan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak karena perbedaan hasil rendemen yang didapatkan oleh setiap konsentrasi etanol.

Hasil penelitian Senja *et al* (2014) juga mendapatkan nilai rendemen yang berbeda cukup

signifikan saat mengekstraksi sampel menggunakan etanol dengan konsentrasi 95% dan 96%. Hal ini disebabkan oleh prinsip ekstraksi like dissolves like yang berarti suatu senyawa akan mudah larut dengan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Polaritas etanol akan semakin meningkat seiring dengan penurunan konsentrasi etanol pada air (Suhendra *et al.*, 2019). Etanol dengan konsentrasi 95% memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan etanol dengan konsentrasi 96%. Perbedaan tingkat kepolaran tersebut akan mempengaruhi hasil ekstraksi yang didapat karena senyawa dalam spons akan lebih banyak terlarut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama.

Berdasarkan hasil penelitian dari Yeto *et al* (2022) menunjukkan bahwa komponen senyawa bersifat polar yang terdapat pada spons *Lamellodysidea herbacea* lebih banyak dibandingkan senyawa yang bersifat non polar karena setelah dilakukan fraksinasi dengan tiga pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda menghasilkan nilai rendemen tertinggi pada fraksi metanol. Hal ini menunjukkan jika semakin polar pelarut yang digunakan dalam ekstraksi spons *Lamellodysidea herbacea* akan menghasilkan nilai rendemen yang lebih tinggi. Oleh karena itu pelarut etanol 96% yang memiliki tingkat kepolaran lebih rendah akan menghasilkan

rendemen yang lebih sedikit daripada etanol 95% yang memiliki tingkat kepolaran yang sedikit lebih besar dalam mengekstraksi spons *Lamellodysidea herbacea*.

Berdasarkan hasil pada Tabel 2 terlihat jika terjadi kenaikan nilai persen inhibisi pada setiap kenaikan konsentrasi sampel. Dari hasil yang didapat hanya konsentrasi 25 ppm yang mempunyai nilai persen inhibisi dibawah 50% sedangkan konsentrasi lainnya mempunyai nilai persen inhibisi diatas 50%. Menurut Porajow *et al* (2023) nilai standar kadar aktivitas antioksidan suatu bahan adalah 50% sehingga suatu bahan dapat dikatakan mempunyai aktivitas antioksidan yang efektif jika memiliki nilai persen inhibisi lebih dari atau sama dengan 50%. Dalam penelitian ini ekstrak spons *Lamellodysidea herbacea* dengan konsentrasi 25 ppm tidak menunjukkan aktivitas antioksidan karena mempunyai nilai persen inhibisi dibawah 50%. Hal ini disebabkan karena jumlah konsentrasi sampel pada konsentrasi 25 ppm adalah yang terkecil dibanding konsentrasi lainnya sehingga membuat aktivitas penghambatan DPPH pada konsentrasi ini tidak sebesar konsentrasi lainnya. Selain itu juga diakibatkan oleh kadar senyawa antioksidan yang semakin bertambah seiring bertambahnya konsentrasi sampel, sehingga membuat penghambatan terhadap DPPH akan semakin tinggi. Dengan demikian nilai absorbansi yang diperoleh lebih rendah karena semakin sedikit DPPH yang dapat menyerap cahaya. Oleh karena itu nilai absorbansi akan berbanding terbalik dengan nilai persen inhibisi karena semakin kecil nilai absorbansi akan menghasilkan nilai persen inhibisi yang tinggi.

Hasil pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa konsentrasi sampel 50 ppm adalah batas konsentrasi minimum yang menunjukkan aktivitas antioksidan dari spons *Lamellodysidea herbacea* dan naik secara konstan pada setiap kenaikan konsentrasi sampel spons *Lamellodysidea herbacea*. Hal ini menunjukkan jika spons *Lamellodysidea herbacea* baru akan bekerja secara efektif sebagai antioksidan jika memiliki kadar minimum sebesar 50 ppm.

Hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang cukup berbeda dari hasil penelitian Rumagit *et al* (2015) dimana, pada penelitian tersebut konsentrasi sampel 50 dan 100 ppm memperoleh nilai persen inhibisi sebesar 23% dan 62% hal ini menunjukkan jika kekuatan antioksidan dari spons *Lamellodysidea herbacea* dipengaruhi oleh lokasi pengambilan sampel. Perbedaan kondisi lingkungan hidup seperti intensitas cahaya,

temperatur, pH, tekanan, arus laut, dan tingkat kedalaman dapat mempengaruhi morfologi dari spons mulai dari tinggi, bentuk, hingga warna dari spons dapat berbeda dan hal ini dapat mengakibatkan perbedaan kandungan metabolit sekunder termasuk senyawa antioksidan yang terkandung dalam spons (Rumagit *et al.*, 2015).

Selain itu perbedaan hasil rendemen yang didapatkan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan karena semakin besar nilai persen rendemen yang didapatkan berarti semakin banyak zat aktif yang terekstrak yang berkemungkinan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Pada penelitian Rumagit *et al* (2015) mendapatkan nilai rendemen lebih kecil sehingga membuat hasil aktivitas antioksidan yang didapatkan lebih rendah karena zat aktif yang terekstrak dari spons *Lamellodysidea herbacea* lebih sedikit.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan jika Spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi 50, 75, 100 ppm.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian lainnya untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung dalam spons *Lamellodysidea herbacea* dan pengujian IC₅₀ untuk mengetahui kekuatan antioksidan dari spons *Lamellodysidea herbacea*

DAFTAR PUSTAKA

- Endarnini, L. H. 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Nurmajid, I, A, P. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil (DPPH). [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto.
- Maukar, G. S., Adithya, Y., Karliah, L. R. M. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Theonella swinhoei* Dikoleksi dari Pulau Manado Tua. *Jurnal Pharmacon UNSRAT*. **11**: 1517-1522
- Porajow, B., A., Adithya, Y., Erladys, R. 2023. Uji Aktivitas Antioksidan (*Stylissa sp.*) yang Diperoleh dari Teluk Manado. *Jurnal Pharmacon UNSRAT*. **12**: 157-162.
- Pratama, A, N., Henri, B. 2020. Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine Max L*) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas.

- Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. **11**: 497-504.
- Prins, I. H. P., Adithya Y., Erladys R. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Dari Spons (*Mycale vansoeti*) Yang Diperoleh Dari Pulau Manado Tua. *Jurnal Pharmacon UNSRAT*. **11**: 1597-1604.
- Rumagit, H. M., Max R. J. R., Sri S. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons Lamellodysidea herbacea. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. **4**: 183-191.
- Rosi, A., Tantawi, D. 2017. Antioksidan dalam Dermatologi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. **4**:39-48
- Senja, R., S., Elisa, I., Akhmad, K., N., Erna, P., S. 2014. Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea L. var capitata f. rubra*). *Traditional Medicine Journal* **19**(1): 43-48.
- Suhendra, C. P., I Wayan, R. W., Anak A. I. S. W. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperara cylindrica (L) Beauv.*) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. **8**: 27-35.
- Sumilat, D. 2017. Aktivitas Spons Laut Lamellodysidea herbacea dari Perairan Malalayang, Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. **4**: 1-7.
- Yetto, A. G., Defny, S. W., Elly, J. S. 2022. Potensi Ekstrak dan Fraksi Spons Lamellodysidea herbacea yang Diperoleh dari Pulau Manado Tua Sebagai Antibakteri. *Jurnal Pharmacon UNSRAT* **11**: 1786-1792.