

UJI FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ETANOL SPONS *Lamellodysidea herbacea*

Hanna M. Rumagit¹⁾, Max R.J. Runtuwene²⁾, Sri Sudewi¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado

²⁾Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT Manado

ABSTRACT

Lamellodysidea sponge herbacea are marine animals that contain active compounds which activeness percentage larger than the compounds produced by land plants. This study aimed to test the phytochemical content and antioxidant activity of ethanol extract of the sponge Lamellodysidea herbacea. Extraction was done by maceration method using ethanol solvent. Phytochemical testing include tests alkaloids, flavonoids, steroids, saponins and tannins. Testing antioxidant activity with DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) measured at a wavelength of 520 nm. Phytochemical test results showed secondary metabolites contained in the ethanol extract alkaloids such sponges, flavonoids, steroids, saponins and tannins. The ethanol extract *Lamellodysidea herbacea* sponge has a relatively strong antioxidant activity based on IC₅₀ values obtained at 85.10 ppm

Key words : *Lamellodysidea herbacea*, phytochemistry test, antioxidants, DPPH.

ABSTRAK

Spons *Lamellodysidea herbacea* merupakan hewan laut yang mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol. Pengujian fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang diukur pada panjang gelombang 520 nm. Hasil uji fitokimia menunjukkan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol spons diantaranya alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin. Ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 85,10 ppm.

Kata kunci : Spons *Lamellodysidea herbacea*, uji fitokimia, antioksidan, DPPH.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan dikulit terluarnya (Winarsi, 2007). Adanya radikal bebas didalam tubuh manusia berperan dalam patologi dari berbagai penyakit degenerative yakni kanker, aterosklerosis, rematik, jantung koroner, katarak dan penyakit degenerasi saraf seperti parkinson (Silalahi, 2006). Radikal bebas dapat ditangkal dengan pemberian antioksidan atau dengan mengkonsumsi antioksidan (Halliwell, 2007).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat digunakan untuk melindungi komponen biologi seperti lipida, protein, vitamin dan DNA melalui perlambatan kerusakan, ketengikan atau perubahan warna yang disebabkan oleh oksidasi (Suryanto, 2012). Sumber-sumber antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik maupun antioksidan alami (Gordon, 1994). Penggunaan senyawa antioksidan berkembang dengan pesat baik untuk makanan maupun pengobatan. Penggunaan

sebagai obat makin berkembang seiring dengan makin bertambahnya pengetahuan tentang aktifitas radikal bebas terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung dan kanker (Boer, 2000).

Spons adalah organisme laut yang memiliki potensi cukup besar dalam menghasilkan senyawa aktif. Didunia diduga terdapat sekitar 10.000 spesies spons dan diperkirakan sekitar 200 spesies hidup diekosistem terumbu karang Asia Tenggara (Dahuri *et al.*, 2001). Spons dilaporkan memiliki aktivitas antikanker, antimikroba dan antiparasit (Amir dan Budianto, 1996). Dari penelitian-penelitian tentang spons yang telah dilakukan sebelumnya mendorong peneliti untuk melakukan penelitian untuk membuktikan bahwa spons *Lamellodysidea herbacea* sp. memiliki kandungan metabolit sekunder yang dapat berpotensi sebagai antioksidan. Metabolit sekunder yang bersifat antioksidatif diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Masker, gunting, sarung tangan, pisau, snorkel, fins, tabung oksigen, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *Baker glass*, pipit tetes, mikro pipet, batang pengaduk, cawan petri, water bath, *ultrasonic ultra 8060 D-H*, *rotary evaporator steroglass strike 300*, spektrofotometer (*Shimadzu 1800*), timbangan (*A&D company limited*).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spons *Lamellodysidea herbacea*, kertas saring, tissue, alumunium foil, kertas label, etanol, aquadest, asam klorida 1 N, besi (III) klorida, kloroform, amoniak 10%, asam sulfat 2 M, reagen *Mayer*, asam klorida pekat, serbuk magnesium, *1,1 difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH).

Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Sampel diperoleh dari perairan pantai Malalayang kota Manado, pengambilan sampel menggunakan

alat bantu (masker, snorkel, fins, tabung oksigen). Sampel yang didapat dibersihkan dari pengotor, lalu dipotong kecil-kecil dan langsung diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Sampel yang diekstraksi kemudian dibawa ke Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi F-MIPA Unsrat untuk dilakukan penelitian lebih lanjut .

2. Ekstraksi Metode Maserasi

Sampel ditimbang dan diperoleh direndam dengan larutan etanol dengan perbandingan 1:3 (b/v). Metode ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam cairan penyari selama 3 kali 24 jam pada temperatur kamar yang dilindungi dari cahaya dengan menghasilkan filtrat 3 dan debris 3. Ke 3 filtrat yang didapat kemudian dicampurkan menjadi satu dan disaring dengan menggunakan kertas saring, filtrat kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator, karena ekstrak masih mengandung cairan pelarut sehingga ekstrak yang telah dievaporasi, dipekatkan dengan bantuan water bath.

3. Uji Fitokimia

(Harborne, 1996)

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 4 mL ekstrak etanol spons dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL kloroform dan 5 mL amoniak 10 %, lalu ditambahkan 10 tetes asam sulfat 2 M untuk memperjelas pemisahan terbentuknya 2 fase yang berbeda. Bagian atas dari fase yang terbentuk diambil, kemudian ditambahkan reagen Mayer. Keberadaan alkaloid dalam sampel ditandai dengan terbentuknya endapan merah.

b. Uji Flavonoid

Ekstrak ekstrak etanol spons sebanyak 1 mL diambil ditambahkan serbuk magnesium secukupnya dan 10 tetes asam klorida pekat. Keberadaan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga.

c. Uji Steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol spons diambil dan ditambahkan dengan 2 mL kloroform. Setelah itu campuran dikocok. Kemudian filtrat ditambahkan asetat anhidrat dan

asam sulfat pekat masing-masing sebanyak 2 tetes. Reaksi positif ditunjukkan pada perubahan warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau.

4. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH menurut Burda dan Olezek (2001). Larutan uji yang telah dibuat, masing-masing diambil sebanyak 1 mL dan direaksikan dengan 1,5 mL larutan *1,1 difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) dalam etanol dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansi diukur pada panjang gelombang 520 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

5. Perhitungan Persen Inhibisi dan Nilai IC₅₀

Setelah absorbansi didapat, besarnya persentase penangkal

radikal bebas (persen inhibisi) dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi dimana ekstrak dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linear $y = a + bx$. Grafik dibuat dengan konsentrasi sampel uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) terhadap persen inhibisi sebagai ordinat (sumbu y).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan dan Determinasi

Sampel diperoleh dari perairan pantai Malalayang kota Manado dan determinasi spons *Lamellodysidea herbacea* dilakukan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa jenis spons yang diteliti ialah spons *Lamellodysidea herbacea*. Tujuan dilakukannya determinasi ialah agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan sampel yang akan digunakan pada uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan.

Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan. Pada penelitian ini pengujiannya dilakukan dengan cara mengambil sedikit sampel dari ekstrak hasil maserasi, lalu ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif yaitu alkaloid, flavonoid, steroid saponin dan tanin (lihat tabel 1).

Tabel 1. Uji fitokimia Ekstrak Etanol spons *Lamellodysidea herbacea*

UJI FITOKIMIA	Ekstrak etanol	INDIKATOR
Alkaloid	+	Terbentuk endapan merah
Flavonoid	+	Perubahan warna menjadi hitam kemerahan
Steroid	+	Perubahan warna menjadi hijau
Saponin	+	Terbentuk busa yang stabil
Tanin	+	Perubahan warna hitam kehijauan/kuning

Uji Alkaloid

Pada pengujian alkaloid, yang positif mengandung alkaloid. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan adanya

endapan merah pada uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer ($\text{HgCl}_2 + \text{KI}$). Alkaloid mengandung atom nitrogen dan bersifat basa sehingga untuk mengekstraknya dibutuhkan penambahan asam sulfat. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion iod dalam pereaksi mayer, hal ini mengakibatkan terbentuknya endapan merah pada penambahan pereaksi mayer karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari pereaksi Mayer (Marliana *et al.*, 2005; Sangi dkk., 2008). Alkaloid pada umumnya berbentuk kristal yang disebut dengan garam-garam alkaloid.

Uji Flavonoid

Pada hasil uji flavonoid, sampel menunjukkan hasil yang positif yakni mengalami perubahan warna menjadi hitam kemerahan. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil. Oleh karena itu, umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol. Etanol berfungsi sebagai pembebas flavonoid dari bentuk garamnya. Penambahan asam

klorida pekat berfungsi untuk protonasi flavonoid hingga terbentuk garam flavonoid. Setelah penambahan bubuk magnesium, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi hitam kemerahan. Warna hitam kemerahan yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium (Harborne, 1987).

Uji Steroid

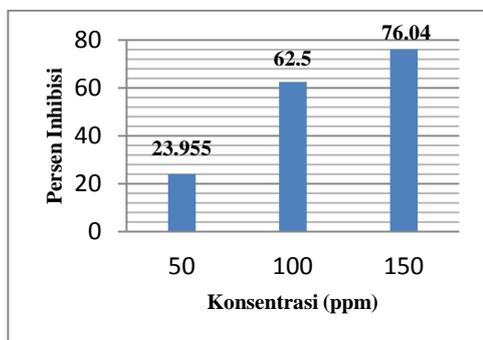
Pada pengujian steroid menunjukkan hasil positif karena dibuktikan dengan terjadinya perubahan warna larutan menjadi hijau ketika ditambahkan dengan kloroform dan asam sulfat pekat yang menandakan adanya steroid. Analisis senyawa didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat (Ciulei, 1984).

Uji Aktifitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Konsentrasi ekstrak etanol sampel spons *Lamellodysidea herbacea* yang digunakan adalah 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet 1 mL dan

dicampurkan dengan 1,5 mL larutan DPPH 93 μ M. Campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap pada suhu 37⁰C. Hal ini dilakukan untuk mengoptimalkan aktivitas DPPH agar terjadi reaksi antara DPPH dengan sampel yang diuji. (Hatano *et al.*, 1998).

Dari hasil pengukuran diperoleh absorbansi yang kemudian digunakan untuk perhitungan nilai persen inhibisi atau persen perendaman senyawa antioksidan (sampel) terhadap DPPH. Data persen inhibisi ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* di sajikan pada Gambar 2 berikut ini :



Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Gambar 2 menunjukan bahwa pengukuran persen inhibisi pada ekstrak etanol spons mengalami peningkatan pada konsentrasi 50 ppm-150 ppm. Pada ekstrak etanol spons dengan konsentrasi 150 ppm memiliki persen inhibisi yang tinggi

yaitu sebesar 77,08 ppm. Peningkatan persen inhibisi pada ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* menandakan bahwa konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam merendam radikal bebas. Hasil ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Hanani *et al.*, (2005) yang menyatakan bahwa presentasi penghambat (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi.

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH ekstrak etanol spons dapat dinyatakan dengan parameter IC₅₀ yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan penangkapan terhadap radikal bebas sebesar 50 %. Nilai IC₅₀ ditentukan dari persamaan regresi linier antara konsentrasi bahan uji dengan persentase penangkal radikal bebas rata-rata dari masing-masing konsentrasi. Harga IC₅₀ berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Semakin besar harga IC₅₀ aktivitas antioksidan semakin kecil, artinya konsentrasi yang dibutuhkan untuk

menghasilkan aktivitas antioksidan sebesar 50 % semakin besar.

Berdasarkan hasil perhitungan IC_{50} menunjukkan bahwa ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yaitu 85,10 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat bila $IC_{50} < 50$ ppm, kuat bila nilai IC_{50} bernilai 50-100 ppm, sedang bila IC_{50} bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai IC_{50} bernilai 151-200 ppm (Blois, 2005). Menurut klasifikasi ini ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, karena nilai IC_{50} -nya bernilai diantara 50-100 ppm, yaitu 85,10 ppm.

Berdasarkan hasil perhitungan IC_{50} menunjukkan bahwa ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat pada biota laut ini. Hal ini sesuai yang dikemukakan oleh Winarsi (2007) pembentukan sel kanker salah satunya dapat dipicu oleh adanya senyawa radikal bebas di dalam tubuh yang dapat merusak

asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel yang mengakibatkan dinding sel menjadi rapuh. Senyawa radikal bebas ini berpotensi merusak DNA sehingga mengacaukan sistem info genetika dan berlanjut pada pembentukan sel kanker. Radikal bebas dapat ditangkal atau direndam dengan pemberian antioksidan atau mengonsumsi antioksidan (Halliwell, 2007). Sesuai dengan yang dikemukakan oleh Trilaksani (2003) antioksidan juga dapat berperan dalam menekan proliferasi (perbanyak) sel kanker, karena antioksidan berfungsi menutup jalur pembentukan sel ganas (*blocking agent*).

KESIMPULAN

1. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* berdasarkan uji fitokimia yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin.
2. Ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat, karena nilai

IC₅₀-nya bernilai diantara 50-100 ppm, yaitu 85,10 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta : Depkes RI. Hal. 10-11.

Halliwell B.2007. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health. *J. Cardiovascular Research* **73**:341-347.

Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-6. Terjemahan Padmawinata, K. ITB, Bandung.

Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Kanisius. Jogjakarta

Suryanto E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.

Winarsi, H.2007. *antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.

