

## PEREDAMAN RADIKAL DPPH OLEH EKSTRAK METANOL *Spirulina platensis* DAN TERIPANG EMAS (*Stichopus hermanii*)

Mega Safithri<sup>1,3\*</sup>, Kustiariyah Tarman<sup>2,3</sup>, Iriani Setyaningsih<sup>2,3</sup>, Anisa Gianti Zhafira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biokimia, FMIPA IPB University, Jalan Meranti Dramaga, Kabupaten Bogor 16680 Jawa Barat Telepon (0251) 8423267

<sup>2</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK IPB University, Jalan Agatis Dramaga, Kabupaten Bogor, 16680 Jawa Barat. Telepon (0251) 8622915

<sup>3</sup>Divisi Bioteknologi Kelautan, PKSPL, LPPM IPB

Diterima: 13 September 2020/Disetujui: 30 Desember 2020

\*Korespondensi: safithri@apps.ipb.ac.id

**Cara sitasi:** Safithri M, Tarman K, Setyaningsih I, Zhafira AG. 2020. Peredaman radikal DPPH oleh ekstrak metanol *Spirulina platensis* dan teripang emas (*Stichopus hermanii*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3): 513-522.

### Abstrak

*Spirulina platensis* dan teripang emas (*Stichopus hermanii*) merupakan biota laut yang memiliki khasiat bagi kesehatan. Salah satu manfaat *S. platensis* dan *S. hermanii* adalah sebagai sumber antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dan mengidentifikasi kandungan golongan senyawa bioaktif *S. platensis* asal Jepara, teripang emas asal Flores. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan radikal DPPH sebagai oksidan. Identifikasi kandungan senyawa bioaktif menggunakan uji fitokimia secara kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol *S. platensis*, teripang emas, dan campurannya masing-masing memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $324,92 \pm 4,06$  ppm,  $2.696,09 \pm 329,28$  ppm, serta  $2.445,80 \pm 164,18$  ppm. Ekstrak metanol *S. platensis* mengandung flavonoid, alkaloid, dan steroid sedangkan ekstrak metanol *S. hermanii* mengandung saponin, alkaloid, dan triterpenoid.

Kata kunci : antioksidan, bioaktif, biota laut, fitokimia

### DPPH radical scavenging by extract methanol of *Spirulina platensis* and gold sea cucumber (*Stichopus hermanii*)

#### Abstract

*Spirulina platensis* and gold sea cucumber (*Stichopus hermanii*) are marine biota that known have many health benefits. One of the benefit is as an antioxidant. The antioxidant activity of *S. hermanii* dan *S. platensis* from another country has been studied, but the antioxidant activity of both materials from Indonesia and the mixture haven't studied yet. The purpose of this study was to test the antioxidant activity and to identify bioactive compounds of methanol extract of *S. hermanii* from Flores, *S. platensis* from Jepara and the mixture using DPPH method. Measurement of antioxidant activity used DPPH radical as an oxidant. Identification of bioactive compounds used a qualitative phytochemical test. The results showed that methanol extract of *S. hermanii*, *S. platensis* and the mixtures have  $IC_{50}$  value of  $2,696.09 \pm 329.28$  ppm,  $324.92 \pm 4.06$  ppm and  $2,445.80 \pm 164.18$  ppm. The methanol extract of gold sea cucumber contains alkaloids, saponins and triterpenoid, meanwhile *S. platensis* methanol extract contains alkaloids, flavonoids and steroids. Based on tests, the methanol extract from gold sea cucumber, *S. platensis* and the mixtures had very weak antioxidant activity with  $IC_{50}$  values more than 200 ppm.

Keywords: antioxidant activity, bioactive compounds, marine biota, phytochemical

## PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat atau mencegah proses oksidasi dalam tubuh yang disebabkan oleh adanya radikal bebas. Radikal bebas adalah senyawa yang bersifat sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan sebanyak satu atau lebih (Santoso 2016). Radikal bebas dapat dihasilkan di dalam sel tubuh melalui reaksi-reaksi metabolisme. Asap rokok dan polusi udara adalah sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh. Radikal bebas yang berasal dari luar maupun dalam tubuh dapat menyebabkan proses oksidasi dalam sel sebagai awal terjadinya berbagai macam penyakit degeneratif, yaitu penyakit aterosklerosis, kanker, asam urat dan lainnya (Werddhasari 2014). Senyawa radikal bebas yang berbahaya tersebut bagi tubuh dapat dihambat oleh senyawa antioksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas (Sen *et al.* 2010).

Sumber senyawa antioksidan dapat berupa senyawa sintetis maupun senyawa alami. Senyawa antioksidan sintetis merupakan senyawa antioksidan yang dibuat dari zat-zat kimia, contohnya *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA). Penggunaan antioksidan sintetis mulai dikurangi karena memiliki efek samping, seperti kerusakan organ hati. Antioksidan alami yang berasal dari tanaman ataupun hewan mulai banyak dikembangkan (Sukmiwati 2012). Salah satu senyawa antioksidan yang mulai banyak dimanfaatkan adalah senyawa antioksidan yang berasal dari biota laut.

Biota laut yang memiliki aktivitas antioksidan adalah *Spirulina platensis*. Penelitian *in vivo* pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin menunjukkan bahwa *S. platensis* mempunyai aktivitas antioksidan dengan cara menghambat terbentuknya malondialdehid pada hati tikus (Windari *et al.* 2019). Kemampuan antioksidasi dari *S. platensis* lebih baik jika dibandingkan dengan antioksidan kimia seperti tokoferol ataupun BHA dalam menghambat peroksidasi lemak (Karkos *et al.* 2008). Kandungan bioaktif yang berperan sebagai antioksidan yang dimiliki oleh *S. platensis* adalah  $\alpha$ -tokoferol,

$\beta$ -karoten, vitamin A, klorofil, flavonoid, dan fikosianin, (Wang *et al.* 2007).

Biota laut yang banyak dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan adalah teripang. Penelitian tentang manfaat dan komponen biaktif dari teripang telah dilakukan di antaranya adalah teripang sebagai sumber pangan dan bioaktif (Kustiariyah 2007), senyawa steroid dari teripang gama (Meydia *et al.* 20016), kolagen larut asam dari teripang gama (Safithri *et al.* 2020), antimikroba dari teripang kasur (Sukmiwati *et al.* 2018), potensi kolagen teripang emas sebagai inhibitor tirosinase (Safithri *et al.* 2018). Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan kolagen teripang emas dalam meredam radikal DPPH memiliki nilai  $IC_{50}$  5,84 ppm (Septia 2018). Penelitian *in vivo* pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin menunjukkan bahwa teripang emas memiliki aktivitas antioksidan dalam mereduksi radikal bebas malondialdehid (Windari *et al.* 2019). Ekstrak metanol teripang emas yang berasal dari perairan Lampung Selatan juga merupakan antioksidan kuat karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 200 ppm, yaitu sebesar 65,08 ppm (Rasyid 2012).

*S. platensis* dan teripang emas terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan cara menghambat malondialdehid dan peredaman radikal bebas. Namun demikian, aktivitas antioksidan *S. platensis* asal Jepara Jawa Tengah Indonesia dan teripang emas asal Flores Nusa Tenggara Timur, Indonesia, belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif dan mengukur aktivitas antioksidan ekstrak metanol *S. platensis* asal Jepara, teripang emas asal Flores, serta campuran keduanya menggunakan radikal DPPH.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

*S. platensis* asal Jepara berupa serbuk dan teripang emas segar asal Flores, Nusa Tenggara Timur, Indonesia. Teripang emas yang didapat dari nelayan, dicuci sampai bersih dari pasir kemudian dibekukan. Pengiriman teripang emas dalam kondisi beku, menggunakan jasa transportasi. Teripang emas beku dimasukkan

kotak pendingin dari styrofoam dan diberi es, sehingga sampel teripang emas diterima di laboratorium dalam keadaan beku. Bahan kimia yang digunakan untuk pelarut dalam ekstraksi adalah metanol (teknis-redestilasi). Bahan kimia yang digunakan dalam uji senyawa bioaktif adalah ekstrak metanol teripang emas, ekstrak metanol *S. platensis*, akuades, metanol p.a (Merck), kertas saring, serbuk Mg (Merck), HCl pekat (Merck), amil alkohol (Merck), FeCl<sub>3</sub> (Merck), kloroform (Merck), amoniak (Merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (Sigma Aldrich). Pereaksi Mayer (HgCl<sub>2</sub> (Merck) dan KI (Merck)). Pereaksi Wagner ((Iodin (Merck) dan kalium iodide (Merck)) Pereaksi Dragendorff (Bismut subnitrat (Merck), asam asetat (Merck), kalium iodide (Merck), asam asetat glasial (Merck), HCl 2 N (Merck) dan asam asetat anhidrat (Merck)). Bahan yang digunakan pada uji kadar total fenolik antara lain larutan asam galat (Sigma Aldrich), reagen Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich) dan natrium karbonat 7,5% (Sigma Aldrich). Bahan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH antara lain vitamin C (Sigma Aldrich), etanol p.a (Sigma Aldrich) dan 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) 250 µM (Sigma Aldrich).

Instrumen yang digunakan adalah *freeze dryer* (EYELA FDU 1200), *microplate reader* (Epoch), *micropipet ThermoScientific*, sonikator BRANSON B1510, *vortex* (BI Type 37600 *mixer*), dan *microplate*, dan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific-Genesys 20, AS).

## Metode Penelitian

### Ekstraksi *S. platensis*

Ekstraksi *S. platensis* dilakukan menggunakan metode maserasi merujuk metode Rasyid 2012 dengan modifikasi. Ekstraksi dilakukan dengan merendam serbuk *S. platensis* yang telah diperoleh dalam pelarut metanol. Perbandingan serbuk *S. platensis* dan pelarut adalah 1:10. Campuran kemudian dimaserasi menggunakan inkubator bergoyang selama 24 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 125 rpm. Campuran kemudian disaring, ampas yang diperoleh kembali dilarutkan menggunakan pelarut

metanol. Tahap ini dilakukan sebanyak dua kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga berbentuk pasta. Rendemen ekstrak *S. platensis* dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

### Preparasi daging teripang segar

Persiapan daging teripang emas yang akan diestrak mengacu pada preparasi daging teripang emas Safithri *et al.* (2018). Teripang emas dicuci bersih menggunakan air mengalir, sehingga kotoran yang menempel pada kulit teripang emas hilang. Setelah bersih, teripang emas dipotong menggunakan pisau dengan arah memanjang, lalu daging dipisahkan dari jeroan, kulit dan gonad.

### Ekstraksi *S. hermanii*

Ekstraksi *S. hermanii* dilakukan menggunakan metode maserasi merujuk metode Rasyid 2012 dengan modifikasi. Daging teripang emas hasil preparasi dikeringkan pada suhu -50 °C selama 24 jam menggunakan *freeze dryer*. Sampel yang diperoleh kemudian diekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi. Perbandingan teripang emas dan pelarut adalah 1:5 dan dimaserasi menggunakan inkubator bergoyang dengan kecepatan 125 rpm selama 24 jam pada suhu ruang, kemudian campuran disaring, ampas yang diperoleh dilarutkan kembali dengan pelarut metanol. Pelarutan kembali ampas yang diperoleh dilakukan sebanyak lima kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh lalu dipekatkan pada suhu 40 °C menggunakan *rotary evaporator* hingga berbentuk pasta. Rendemen hasil *freeze drying* dan ekstraksi dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen hasil freeze dry (\%)} = \frac{\text{bobot hasil freeze dry}}{\text{bobot daging teripang hasil preparasi}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot daging teripang hasil preparasi}} \times 100\%$$

### Pembuatan campuran ekstrak *S. platensis* dan teripang emas

Ekstrak *S. platensis* dicampurkan dengan ekstrak teripang emas dengan perbandingan

10 :1 . Campuran diaduk rata dan siap untuk diuji. Perbandingan 10 : 1 berdasarkan dosis penggunaan dari produk komersial teripang dan spirulina.

## Analisis Data

### Pengujian Kualitatif Golongan Senyawa Bioaktif

Pengujian kualitatif golongan senyawa bioaktif *S. platensis* dan teripang emas memakai metode Harbone (1984). Golongan senyawa bioaktif yang diuji adalah flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid.

### Pengujian flavonoid

Ekstrak *S. platensis* dan teripang emas masing-masing sebanyak 50 mg dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 10 mL akuades dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Larutan tersebut dididihkan selama 5 menit pada suhu 100 °C, lalu disaring dan filtratnya diambil untuk ditambahkan dengan 0,5 g serbuk Mg, 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 1 mL amil alkohol. Larutan lalu dikocok dengan kuat. Adanya golongan senyawa bioaktif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

### Pengujian tanin

Ekstrak *S. platensis* dan teripang emas masing- masing sebanyak 50 mg dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 10 mL akuades dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Larutan tersebut dididihkan selama 5 menit pada suhu 100 °C, lalu disaring dan filtratnya diambil untuk ditambahkan dengan 3 tetes FeCl<sub>3</sub>. Adanya golongan senyawa bioaktif tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau hijau kehitaman.

### Pengujian alkaloid

Ekstrak *S. platensis* dan teripang emas masing-masing sebanyak 50 mg dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambahkan dengan 5 mL kloroform dan 3 tetes amoniak lalu dihomogenkan menggunakan vorteks. Larutan disaring dan diambil filtratnya yang kemudian ditambahkan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M. Fraksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> yang diperoleh kemudian

diambil dan diteteskan plat tetes. Sebanyak tiga fraksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pada plat tetes ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner, Dragendorff, dan Mayer secara masing-masing. Adanya golongan senyawa bioaktif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat pada pereaksi Wagner, endapan merah pada pereaksi Dragendorff, dan endapan putih pada pereaksi Mayer.

Pereaksi Mayer dibuat dengan cara 1,36 gram HgCl<sub>2</sub> ditambahkan 0,5 gram KI, kemudian dilarutkan dengan akuades menjadi 100 mL dengan labu takar. Pereaksi Wagner dibuat dengan cara 2,5 gram iodin dan 2 gram kalium iodida dilarutkan dengan akuades menjadi 200 mL dalam labu takar. Pereaksi Dragendorff dibuat dengan cara membuat larutan pertama dan kedua. Larutan pertama yaitu 0,8 gram bismut subnitrat ditambahkan dengan 10 mL asam asetat dan 40 mL air. Larutan kedua yaitu 8 gram kalium iodida dalam 20 mL air. Larutan pertama dicampurkan dengan larutan kedua. Selanjutnya, larutan campuran tersebut diencerkan 2-3 kali, dengan larutan ketiga yaitu, 20 ml asam asetat glasial dan 100 mL air.

### Pengujian saponin

Ekstrak *S. platensis* dan teripang emas masing-masing sebanyak 50 mg dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 10 mL akuades dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Larutan tersebut dididihkan selama 5 menit pada suhu 100 °C, lalu disaring dan filtratnya yang diperoleh dikocok secara kuat selama 10 detik. Adanya golongan senyawa bioaktif saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil selama 10 menit.

### Pengujian steroid dan triterpenoid

Ekstrak *S. platensis* dan teripang emas masing-masing sebanyak 50 mg dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 10 mL etanol dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Larutan tersebut dididihkan selama 5 menit pada suhu 100 °C, lalu disaring dan filtrat yang diperoleh diuapkan hingga kering, lalu ditambahkan 1 mL dietil eter. Larutan kemudian diambil sebanyak 5 tetes ke dalam cawan porselen dan ditambahkan dengan 1 tetes asam asetat anhidrat serta 1 tetes asam

sulfat pekat. Adanya golongan senyawa bioaktif steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, sedangkan adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah.

### **Pengukuran Kadar Total Senyawa Fenol**

Pengukuran kadar total senyawa fenol merujuk pada metode Kruawan dan Kangsadalampai (2006). Pengukuran kadar total senyawa fenol menggunakan asam galat sebagai standar.

### **Pengukuran larutan standar asam galat**

Larutan asam galat sebanyak 20 µL dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80, 100 dan 125 ppm masing-masing ditambahkan 160 µL akuades, 10 mL reagen Folin-Ciocalteu 10%, dan 10 µL natrium karbonat 7,5%. Larutan lalu diinkubasi pada ruang gelap selama 60 menit. Setelah itu larutan diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 725 nm.

### **Pengukuran total senyawa fenol larutan ekstrak *S. platensis* dan teripang emas**

Larutan sampel sebanyak 20 µL ditambahkan 160 µL akuades, 10 mL reagen Folin-Ciocalteu 10%, dan 10 µL natrium karbonat 7,5%. Lalu larutan diinkubasi selama 60 menit pada ruang gelap. Larutan lalu diinkubasi pada ruang gelap selama 60 menit. Setelah itu larutan diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 725 nm.

### **Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH merujuk metode modifikasi Salazar *et al.* (2011). Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan asam askorbat sebagai standar.

### **Pengukuran larutan standar asam vitamin C**

Sebanyak 100 µL larutan vitamin C dengan konsentrasi 0; 6,5; 1,25; 2,5; 5 dan 10

ppm masing-masing ditambahkan dengan 100 µL larutan DPPH 250 µM, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit pada ruang gelap. Setelah itu larutan diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm.

### **Pengukuran aktivitas antioksidan larutan ekstrak *S. platensis* dan teripang emas**

Larutan sampel sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam *microplate*, lalu ditambah 100 µL larutan DPPH 250 µM, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit pada ruang gelap. Setelah itu larutan diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm. Presentase inhibisi larutan dihitung dengan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban kontrol}} \times 100$$

### **HASIL DAN PEMBAHASAN Rendemen Ekstrak Metanol *S. platensis* dan teripang emas**

Rendemen ekstrak metanol teripang emas (26,7%) lebih besar dibandingkan ekstrak metanol *S. platensis* (10,19%). Rendemen hasil *freeze drying* cairan teripang emas adalah sebesar 6,85%. Pemilihan metode maserasi untuk mengekstrak *S. platensis* dan teripang emas didasarkan proses yang sederhana dan tidak adanya penggunaan suhu tinggi. Penggunaan suhu tinggi dapat merusak komponen bioaktif yang terdapat dalam suatu bahan (Melawati 2006). Pemilihan metanol sebagai pelarut didasarkan pada sifat semi polar, memiliki nonpolar (-CH<sub>3</sub>) dan gugus polar (-OH), dapat menarik komponen bioaktif yang bersifat non polar dan polar (Mukti 2016). Rendemen ekstrak *S. platensis* yang diperoleh dalam penelitian ini (10,19%) lebih besar jika dibandingkan ekstrak aseton *S. platensis* (4,11%) dengan metode soxhletasi (Anam *et al.* 2014). Rendemen ekstrak teripang emas yang diperoleh dalam penelitian ini (26,87%) lebih besar dibanding ekstrak aseton teripang (9,87%) (Karnila *et al.* 2011). Hasil yang didapatkan menunjukkan pelarut metanol lebih banyak mengekstrak senyawa bioaktif pada *S. platensis* dan teripang emas

dibandingkan aseton. Nilai rendemen ekstrak sangat dipengaruhi oleh pemilihan pelarut (Tanaya *et al.* 2015).

Cairan teripang emas dihilangkan kandungan airnya menggunakan metode kering beku atau *freeze dry*. Metode kering beku digunakan untuk pengeringan sampel yang mengandung senyawa bioaktif yang rentan terhadap panas, karena suhu yang digunakan merupakan suhu rendah (Hariyadi 2013), sehingga tidak akan merusak senyawa aktif yang terdapat dalam teripang emas.

### Golongan Senyawa Bioaktif Ekstrak Metanol *S. platensis* dan Teripang Emas

Ekstrak metanol *S. platensis* mengandung golongan senyawa bioaktif alkaloid, flavonoid, dan steroid (Table 1). Simplisia *S. platensis* mengandung golongan senyawa bioaktif alkaloid, fenol hidrokuinon, saponin, dan steroid. Ekstrak fikosianin *S. platensis* mengandung golongan senyawa bioaktif alkaloid, saponin, dan steroid (Surbakti 2013). Kandungan flavonoid yang terkandung pada *S. platensis* menyebabkan mikroalga ini memiliki aktivitas antioksidan (Wang *et al.* 2007). Flavonoid dapat menghambat aktivitas radikal bebas seperti radikal anion superoksida dan radikal bebas hidroksil (Pieta 2000). Ekstrak metanol teripang emas mengandung golongan senyawa bioaktif alkaloid, saponin dan triterpenoid (Table 1). Golongan senyawa bioaktif triterpenoid dan alkaloid tidak ditemukan

pada ekstrak metanol teripang emas asal Lampung, karena hanya mengandung golongan senyawa bioaktif steroid dan saponin (Rasyid 2012).

### Kadar Total Fenolik Ekstrak Metanol *S. platensis* dan Teripang Emas

Ekstrak metanol *S. platensis* mengandung total fenolik yang tertinggi jika dibandingkan dengan ekstrak metanol teripang emas dan campuran ekstrak, yaitu sebesar  $21,93 \pm 1,79$  GAE mg/g (Figure 1). Pengukuran dilakukan menggunakan asam galat sebagai standar, dan diperoleh persamaan garis  $y=0,0049x+0,0681$  dengan nilai  $R^2$  sebesar 0,9604. Asam galat merupakan salah satu senyawa golongan fenolik yang memiliki struktur yang sederhana, memiliki peran farmakolgi, dan digunakan sebagai standar untuk menentukan kandungan analit dalam industri farmasi (Nayeem *et al.* 2016)

Ekstrak metanol dalam penelitian ini memiliki kadar total fenol yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak butanol *S. platensis* yang memiliki kadar total fenolik  $121,0 \pm 3,5$  GAE mg/100 g (Gauda *et al.* 2015). Kadar total fenolik ekstrak metanol teripang emas sebesar  $3,63 \pm 0,16$  GAE mg/g (Figure 1), nilai ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak metanol *H. scabra* yang memiliki kadar total fenolik sebesar 1,3 GAE mg/g (Althunibat *et al.* 2009). Perbedaan nilai kadar total fenol dapat disebabkan perbedaan jenis sampel, perbedaan metode ekstraksi yang digunakan dan perbedaan

Table 1 Bioactive compounds of *S. platensis* and gold sea cucumber methanol extract

Bioactive compounds	<i>S. platensis</i>	Gold sea cucumber
Alkaloids		
Dragendorff	+	+
Mayer	+	+
Wagner	+	+
Flavonoids	+	-
Saponins	-	-
Tannins	-	-
Steroids	+	-
Triterpenoids	-	+

Note: +=bioactive compounds; -=no bioactive compounds; n =2

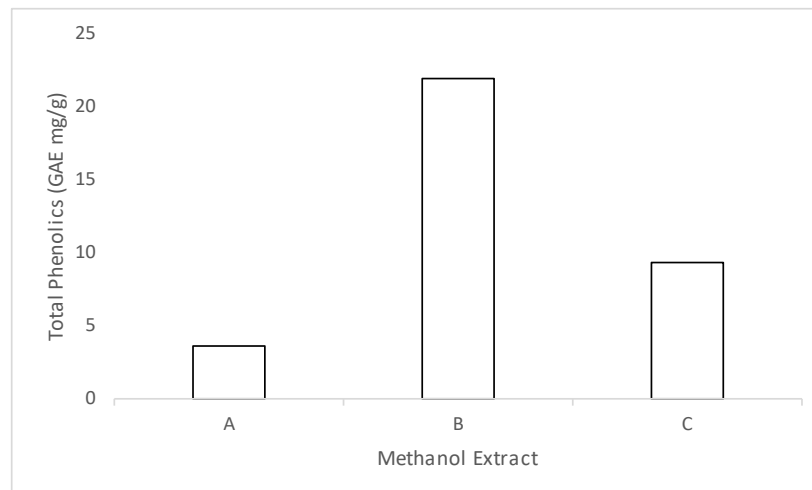


Figure 1 Total phenolics; A= *S. hermanii*; B=gold sea cucumber; C= Mix of *S. platensis* and gold sea cucumber.

lingkungan hidup sampel. Senyawa golongan fenolik merupakan golongan senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan (Khanahmadi *et al.* 2010). Kadar total fenolik campuran ekstrak metanol *S. platensis* dan teripang emas memiliki kadar total fenolik yang lebih besar dari kadar total fenolik teripang emas, yaitu sebesar  $9,31 \pm 1,09$  GAE mg/g (Figure 1), hal ini menunjukkan bahwa kadar total fenolik campuran ekstrak meningkat karena keberadaan senyawa fenolik pada ekstrak *S. platensis*.

#### Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol *S. platensis* dan Teripang Emas

Ekstrak metanol *S. platensis* mengandung aktivitas antioksidan yang tertinggi dalam

meredam radikal DPPH jika dibandingkan dengan ekstrak metanol teripang emas dan campuran ekstrak, yaitu nilai  $IC_{50}$  sebesar  $324,92 \pm 4,06$  ppm (Figure 2). Nilai ini tidak berbeda jauh dari ekstrak metanol *S. platensis* yang sudah diteliti sebelumnya dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 323,70 ppm (Setyaningsih *et al.* 2013). Senyawa bioaktif fikosianin, klorofil, flavonoid,  $\beta$ -karoten, vitamin A serta  $\alpha$ -tokoferol yang terkandung dalam *S. platensis* merupakan senyawa yang mampu berperan sebagai antioksidan (Wang *et al.* 2007).

Ekstrak metanol teripang emas memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $2.696,09 \pm 329,28$  ppm (Figure 2). Nilai  $IC_{50}$  ini lebih besar jika dibandingkan ekstrak metanol teripang

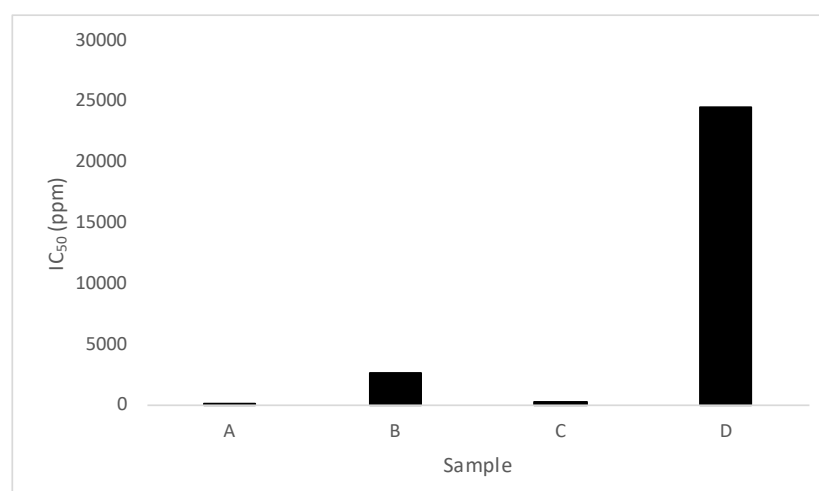


Figure 2 Antioxidant activity of; A=ascorbic acid; B=gold sea cucumber; C= *S. platensis*; D= Mix of *S. platensis* and gold sea cucumber.

emas asal Lampung yang memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 65,08 ppm (Rasyid 2012). Perbedaan aktivitas antioksidan dalam meredam radikal DPPH dapat disebabkan karena perbedaan asal teripang emas sehingga senyawa bioaktif yang dikandung juga berbeda. Ekstrak metanol teripang emas asal Lampung, mengandung golongan senyawa bioaktif steroid dan saponin (Rasyid 2012), sedangkan ekstrak metanol teripang emas asal Labuan Bajo, tidak memiliki steroid tetapi memiliki saponin, alkaloid dan triterpenoid (Table 1). Golongan senyawa bioaktif saponin bersifat antioksidan yang dapat menyumbangkan hidrogen pada DPPH (Xiong *et al.* 2012). Golongan senyawa bioaktif triterpenoid memiliki kerangka karbon yang berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari skualen. Skualen merupakan antioksidan alami yang dapat mendonorkan hidrogen yang dimilikinya kepada radikal bebas (Amarowicz 2009).

Aktivitas antioksidan campuran ekstrak metanol *S. platensis* dan teripang emas memiliki nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah dari ekstrak metanol teripang emas, yaitu sebesar  $2.445,80 \pm 164,18$  GAE mg/g (Figure 2). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan campuran ekstrak meningkat karena keberadaan senyawa fenolik pada ekstrak *S. platensis*. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol *S. platensis*, teripang emas, dan campurannya disebabkan keberadaan senyawa fenolik yang dimiliki ketiga sampel. Aktivitas antioksidan dalam suatu sampel dipengaruhi kandungan total fenolik dalam sampel tersebut. Semakin tinggi kadar total fenolik dalam suatu sampel akan memberikan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (Zheng dan Wang 2003).

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol *S. platensis*, teripang emas, dan campurannya pada penelitian ini dibandingkan dengan aktivitas antioksidan asam askorbat (vitamin C). Nilai  $IC_{50}$  asam askorbat pada penelitian ini sebesar  $7,19 \pm 0,20$  ppm (Figure 2). Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif antioksidan kuat karena dapat mendonorkan atom hidrogen yang selanjutnya akan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif stabil (Hart *et al.* 2003). Aktivitas antioksidan

dapat digolongkan menjadi lima golongan, yaitu yaitu sangat kuat ( $IC_{50} < 50$  ppm), kuat ( $50 \text{ ppm} < IC_{50} < 100$  ppm), sedang ( $100 \text{ ppm} < IC_{50} < 150$  ppm), lemah ( $150 \text{ ppm} < IC_{50} < 200$  ppm), dan sangat lemah ( $IC_{50} > 200$  ppm) (Molyneux 2004). Dengan demikian, ekstrak metanol *S. platensis*, teripang emas, dan campurannya memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah karena memiliki nilai  $IC_{50}$  di atas 200 ppm. Aktivitas antioksidan *S. platensis* tergolong sangat lemah diduga karena *S. platensis* yang digunakan adalah *S. platensis* serbuk komersial yang berasal dari Jepara, Jawa Tengah. Hal ini memungkinkan ketika membuat serbuk *S. platensis* ada perlakuan yang dapat menyebabkan menurunnya bioaktivitas, yaitu proses pengeringan yang dilakukan. Senyawa aktif dalam spirulina juga dapat berubah karena perbedaan metode pembiakan, pemanenan, dan pengeringan yang digunakan (Aouir *et al.* 2017).

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol teripang emas sangat lemah disebabkan bioaktif terpenoid sebagai antioksidan lebih larut dalam pelarut organik nonpolar seperti n-heksana, sedangkan radikal senyawa DPPH mudah larut dalam pelarut metanol dan etanol (Elnour *et al.* 2018). Hal ini menyebabkan bioaktif terpenoid kurang aktif dalam meredam radikal DPPH. Metode DPPH merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang paling umum digunakan. Metode ini umum digunakan karena prosedur yang dilakukan lebih sederhana dan waktu analisis yang cenderung lebih cepat dibandingkan dengan metode analisis lainnya (Antolovich *et al.* 2012). Selain itu, metode ini juga sederhana, cepat dan hanya memerlukan sedikit sampel (Hanani *et al.* 2005). Aktivitas antioksidan dalam peredaman radikal DPPH menunjukkan bahwa tingginya jumlah senyawa fenol dan adanya bioaktif flavonoid pada *S. platensis* sangat berperan dalam mereduksi radikal DPPH, sehingga nilai  $IC_{50}$  *S. platensis* lebih rendah dibandingkan dengan teripang emas.

## KESIMPULAN

Ekstrak metanol *S. platensis* mengandung golongan senyawa bioaktif flavonoid, alkaloid, dan steroid, sedangkan ekstrak metanol



teripang emas mengandung golongan senyawa bioaktif saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Ekstrak metanol *S. platensis*, teripang emas, dan campurannya memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah karena memiliki nilai IC<sub>50</sub> diatas 200 ppm.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Althunibat OY, Hashim RB, Taher M, Daud JM, Ikeda MA. 2009. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of three Malaysian sea cucumber species. *European Journal of Scientific Research*. 37 (3): 376-387.
- Amarowicz R. 2009. Squalene: a natural antioxidant. *European Journal Lipid Science Technology*. 111 : 411-412.
- Anam C, Agustini TW, Romadhon. 2014. Pengaruh pelarut yang berbeda pada ekstraksi *Spirulina platensis* serbuk sebagai antioksidan dengan metode Soxhletasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3 (4): 106-112.
- Antolovich M, Paul D, Susanne M. 2012. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 127 (5) : 183-198.
- Aouir A, Amiali M, Bitam A, Benchabane A, Raghavan VG. 2017. Comparison of the biochemical composition of different *Arthrospira platensis* strains from Algeria, Chad and the USA. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(2): 913-923.
- Elnour AAM, Mirghani MES, Musa KH, Kabbashi pengolongan NA, Alam MZ. 2018. Challenge of extraction techniques of natural antioxidant and their potential application opportunities as anti-cancer agents [review]. *Health Science Journal*. 12(5): 596.
- Gouda KGM, Kavitha MD, Sarada R. 2015. Antihyperglycemic, antioxidant and antimicrobial activities of the butanol extract from *Spirulina platensis*. *Journal of Food Biochemistry*. 39: 594-602.
- Hanani E, Mun'im A, Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3): 127-133.
- Harbone JB. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. London (UK): Chapman and Hall.
- Hart H, Craine LE, Hart D. 2003. *Kimia Organik: Suatu Kuliah Singkat*. Achmadi SS, penerjemah; Safitri A, editor. Jakarta (ID) : Penerbit Erlangga. Terjemahan dari *Organic Chemistry: A Short Course*.
- Haryadi P. 2013. Freeze drying technology : for better quality & flavor of dried products. *Foodreview Indonesia*. 8(2): 52-57.
- Karkos PD, Leong SC, Karkos CD, Sivaji N, Assimakopoulos DA. 2008. *Spirulina in clinical practice: evidence-based human application*. Hindawi Publishing Corporation
- Karnila R, Astawan M, Sukarno, Wresdiyati T. 2011. Karakteristik konsentrat protein teripang pasir (*Holothurian scabra* J.) dengan bahan pengeksrak aseton. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 16 (1):90-102.
- Khanahmadi M, Rezazadeh SH, Taran M. 2010. In vitro antimicrobial and antioxidant properties of *Smyrniium cordifolium* boiss (Umbelliferae) Extract. *Asian Journal of Plant Sciences*. 9 (2): 99-103.
- Kruawan K, Kangsadalampai K. 2006. Antioxidant activity, phenolic compound and antimutagenic activity of some water extract of herbs. *Thai Journal of Pharmaceutical Science*. 30 : 28-35.
- Kustiariyah. 2007. Teripang sebagai sumber pangan dan bioaktif. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 10 (1):1-8
- Melawati. 2006. Optimasi proses maserasi vanili (*Vanilla planifolia* A) Hasil modifikasi proses juring. [skripsi]. Bogor (ID): Insitut Pertanian Bogor.
- Melia S. 2017. Karakteristik dan aktivitas antioksidan kolagen larut asam dari teripang emas (*Stichopus hermanii*) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Meydia, Suwandi R, Suptijah P. 2016. Isolasi senyawa steroid dari teripang gama (*Stichopus variegatus*) dengan berbagai jenis pelarut. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(3): 362-369
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)

- for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26: 211-219.
- Mukti MJ. 2016. Profil kimia fraksi aktif antioksidan dari ekstrak metanol daun pohon penghasil gaharu *Aquilaria microcarpa* hasil inokulasi [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Nayeem N, Asdaq SMB, Salem H, AHEL-Alfay S. 2016. Gallic Acid: A Promising Lead Molecule for Drug Development. *Journal of Applied Pharmacy*. 8: 213. doi:10.4172/1920-4159.1000213
- Pieta PG. 2000. Flavonoids as antioxidant. *Journal of Natural Product*. 63: 1043-1046.
- Rasyid A. 2012. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak metanol teripang *Stichopus hermannii*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 4(2): 360-368.
- Safithri M, Tarman K, Suptijah P, Sagita SN. 2020. Karakteristik kolagen larut asam teripang gama (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(1): 166-177
- Safithri M, Setyaningsih I, Tarman K, Suptijah P, Yuhendri VM, Meydia. 2018. Potensi kolagen teripang emas sebagai inhibitor tirosinase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2): 295-303.
- Salazar R, Perez LA, Lopez J, Alanais BA, Torres NW. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary an Alternative Medicine*. 2011:1-6.
- Santoso U. 2016. *Antioksidan pangan*. Penerbit Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sen S, Chakraborti R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. 2010. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*. 3(1): 91- 100.
- Setyaningsih I, Tarman K, Satyantini H, Barus DA. 2013. Pengaruh waktu panen dan nutrisi media terhadap biopigmen *Spirulina platensis*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16 (3): 191-198.
- Sukmiwati M, Diharmi A, Mora E, Susanti E. 2018. Aktivitas antimikroba teripang kasur (*Stichopus vastus* Sluiter) dari Perairan Natuna Kepulauan Riau. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2): 328-335
- Sukmiwati M. 2012. Uji aktivitas antioksidan pada 16 spesies teripang yang ditemukan pada perairan Natuna Kepulauan Riau. *Prosiding Semirata BKS PTN-B MIPA*. Medan.
- Surbakti TR. 2013. Aktivitas antihiperlipidemik dan antioksidan dari *Spirulina platensis* pada umur panen yang berbeda [thesis]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Tanaya V, Retnowati R, Suratmo. 2015. Fraksi semi polar dari daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Konsterm). *Kimia Student Journal*. 1 (1) :778-784.
- Wang L, Pan B, Sheng J, Xu J, Hu Q. 2007. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*. 105 : 36-41.
- Wang L, Pan B, Sheng J, Xu J, Hu Q. 2007. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*. 105: 36-41.
- Werdhasari A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 3 (2): 59-68.
- Windari HAS, Tarman K, Safithri M, Setyaningsih I. 2019. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* and sea cucumber *Stichopus hermannii* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tropical Life Sciences Research* 30(2): 119-129.
- Xiong Y, Sheen J. 2012. Rapamycin and glucose-target of rapamycin (TOR) protein signaling in plants. *The Journal of Biological Chemistry* 287(4): 2836–2842.
- Zheng W, Wang SY. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2): 502-509.