



IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL TERIPANG HITAM (*Holothuria edulis*) ASAL PERAIRAN PANTAI SEMAU DENGAN METODE DPPH

Alberto Loin¹⁾, I Gusti Made Ngurah Budiana²⁾

1,2) Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Nusa Cendana, Kota Kupang-NTT

e-mail: albertoloin.ind@gmail.com

Abstrak

Penelitian tentang identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) asal perairan pantai semau dengan metode DPPH telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder dari ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) dan menguji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazi). Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan pelarut metanol, yang selanjutnya pelarutnya diuapkan menggunakan evaporator. Uji metabolit sekunder menunjukkan bahwa ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, triterpenoid, flavonoid dan saponin. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) memiliki nilai IC_{50} sebesar 60 ppm, dibandingkan dengan standar zuhra menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan asal perairan pantai Semau dikategorikan kuat.

Kata Kunci : ekstrak, teripang hitam, antioksidan

Abstract

Research on the identification of secondary metabolite compounds and antioxidant activity tests of methanol extract of black sea cucumber (*Holothuria edulis*) from Semau coastal waters using the DPPH method have been conducted. This study aims to identify secondary metabolites from the methanol extract of black sea cucumber (*Holothuria edulis*) and test antioxidant activity using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazide) method. Extraction was carried out by maceration with methanol solvent, after which the solvent was evaporated using an evaporator. A secondary metabolite test showed that the methanol extract of black sea cucumber (*Holothuria edulis*) contains secondary metabolite compounds of alkaloid, triterpenoid, flavonoid, and saponin groups. The results of antioxidant activity testing showed that the methanol extract of black sea cucumber (*Holothuria edulis*) had an IC_{50} value of 19.083 ppm, compared to the Zuhra standard, indicating that the antioxidant activity from Semau coastal waters was categorized as strong.

Keywords: extract, black sea cucumber, antioxidant

PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan faktor yang sangat penting dalam kehidupan, karena merupakan hal mutlak yang diperlukan tubuh, tanpa kesehatan yang baik aktivitas manusia akan terganggu. Pola makanan yang sehat merupakan hal penting bagi kesehatan. Perkembangan zaman saat ini yang begitu pesat membuat pola hidup masyarakat mengalami perubahan, masyarakat yang awalnya tradisional menjadi modern sesuai perkembangan zaman yang memicu juga perubahan pola makan pada masyarakat, sehingga pola makan pun mengalami perubahan. Masyarakat umum sekarang

ini lebih cenderung memilih makanan yang instan dan praktis dibandingkan makanan yang diolah dengan tangan sendiri. Makanan cepat saji memang sangat praktis dan menjangkau semua kalangan masyarakat, tetapi banyak masyarakat yang tidak menyadari akan dampak negatif dari makanan cepat saji bagi kesehatan. Makanan cepat saji banyak mengandung lemak tidak jenuh yang tidak baik untuk kesehatan dan dapat memicu terbentuknya radikal bebas (Fitri dkk., 2013).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat laju oksidasi molekul lain atau menetralkan radikal bebas (Fajriah dkk., 2007).

Senyawa antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas, sehingga aktivitas radikal bebas dapat dihambat (Saleh dkk., 2005). Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi antioksidan alami dan sintetik, namun penggunaan beberapa antioksidan sintetik bersifat karsinogenik, sehingga dapat menyebabkan kanker dan mutasi gen (Rita dkk., 2009). Antioksidan alami dapat diperoleh dari organisme darat dan laut. Teripang merupakan salah satu biota laut yang memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan lainnya yang terdapat pada teripang adalah saponin dan SOD (Super Oxide dismutase), SOD adalah senyawa yang bersifat antioksidan, yang diharapkan menjadi alternatif sumber antioksidan alami bagi manusia dimasa mendatang yang mampu menangkal radikal bebas (Ghufran dan Kordi., 2010).

Indonesia sebagai Negara beriklim tropis dengan perairan dangkal yang luas menyediakan habitat yang baik untuk perkembangan berbagai macam jenis teripang (Arnold & Birtles., 1989). Tidak terkecuali juga di perairan Nusa Tenggara Timur. Pantai di Pulau Semau Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan salah satu pantai yang banyak terdapat habitat teripang dengan berbagai jenis dan belum banyak terekspos dan tersentuh oleh manusia. Salah satu teripang yang hidup di perairan ini yakni teripang gamat atau *Stylochopus variegatus*. Teripang di NTT sendiri hanya dimanfaatkan sebagai makanan laut tanpa mengetahui potensi teripang sebagai antioksidan alami, yang memiliki nilai ekonomis dan dapat di jadikan sebagai salah satu sumber mata pencaharian. Penelitian ilmiah mengenai teripang dari perairan Semau bahkan Nusa Tenggara Timur belum banyak dilakukan atau bahkan sama sekali belum dilakukan, sehingga perlu dilakukan suatu penelitian akan potensinya sebagai antioksidan agar masyarakat setempat dapat memanfaatkan potensinya dan juga masyarakat luar dapat mengetahui tentang manfaat teripang asal Nusa Tenggara Timur.

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diuji dengan menggunakan beberapa metode, salah satunya menggunakan radikal bebas 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). Suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi (Rahim., 2012). Metode ini sering digunakan karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani., 2005). Senyawa radikal DPPH yang tidak stabil dan awalnya berwarna ungu, jika direaksikan dengan antioksidan akan stabil, karena antioksidan memberikan atomnya pada DPPH. Terjadinya proses perendaman radikal bebas sehingga DPPH menjadi senyawa non-radikal yang stabil dan

membentuk warna kuning. Sedangkan jika tidak terjadi reaksi dengan antioksidan, DPPH akan tetap berwarna ungu dan tetap menjadi senyawa yang tidak stabil (Yuhernita dan Juniarti., 2011).

Walaupun uji terhadap teripang sudah pernah diteliti namun lingkungan hidup yang berbeda dapat menyebabkan kandungan senyawa kimianya berbeda, oleh karena itu penting untuk dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi bahan kimia metabolit sekunder yang terdapat pada teripang hitam asal perairan pantai semau. Dengan mengetahui aktivitas antioksidan dari teripang hitam (*Holothuria edulis*) asal Perairan Pantai Semau diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan masyarakat sekitar dan luar akan potensi sumber daya teripang di Perairan Semau serta mengenai manfaat pentingnya antioksidan bagi tubuh.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis, timbangan, freeze dryer, rotary evaporator, labu ukur 250 mL, gelas kimia, kertas saring, gelas ukur, tabung reaksi, penyaring, dan bejana untuk maserasi.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah HCl Pekat, Reagen Dragebdroff, Reagen Meyer, kloroform, asam Asetat anhidrat, H₂SO₄, serbuk DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil), metanol *p.a.*, teripang hitam (*Holothuria edulis*) asal perairan pantai semau, dan aquades.

Preparasi dan Pembuatan Ekstrak Teripang Hitam

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah teripang *Holothuria edulis* yang berasal dari perairan pantai Semau Nusa Tenggara Timur. Sampel teripang yang diperoleh terlebih dahulu dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada teripang dan ditiriskan. Penirisan dilakukan sampai sampel tidak basah. Teripang lalu dipotong kecil-kecil lalu, Setelah itu sampel teripang dihaluskan. Sampel teripang *Holothuria edulis* diambil sebanyak 500 gram selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut Metanol 96% sebanyak 2,5 L selama 5 x 24 jam. Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dilakukan penyaringan lagi dengan metanol. Hal ini dilakukan sampai warna filtrat menjadi bening. Filtrat yang sudah bening dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50-60° C.

Uji Fitokimia

• Uji Flavonoid

Ekstrak teripang diambil sebanyak 3 mg dimasukan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 1 – 2 ml methanol panas 50 %. Kemudian ditambahkan sedikit logam Mg dan 0,5 ml HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid (Inayah, 2012).

• Uji Alkaloid

Ekstrak teripang diambil sebanyak 3 mg dimasukan dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 ml HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 0,5 ml reagen Dragebdroff, tabung II ditambahkan 0,5 ml reagen Meyer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kuning-kekuningan menunjukkan adanya alkaloid (Inayah, 2012).

• Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak teripang diambil 3 mg dimasukan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, ditambahkan dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat, kemudian ditambahkan dengan 1- 2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi tersebut. Jika hasil yang dihasilkan diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada pembatas dua pelarut menunjukkan adanya

• Uji Saponin

Ekstrak teripang diambil 3 mg dimasukan dalam tabung reaksi, ditambahkan air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila membentuk busa ditambahkan HCl 1 N, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Wafa, 2012).

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu:

Pembuatan Kurva Standar Larutan DPPH

Pembuatan kurva standar larutan DPPH dilakukan dengan menyiapkan serbuk DPPH yang telah disiapkan, ditimbang sebanyak 5 mg lalu dimasukan dalam gelas kimia. Selanjutnya ditambahkan metanol *p.a* untuk melarutkan DPPH. Campuran ini lalu dimasukan dalam labu ukur 25 mL hingga metanol mencapai tanda. Selanjutnya diambil sejumlah larutan DPPH tadi lalu divariasikan menjadi beberapa konsentrasi yakni 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm. Lalu konsentrasi 25 ppm diambil sebagai larutan kontrol dan pereaksi pada sampel yang akan digunakan.

Penentuan Panjang Gelombang maksimum larutan DPPH

Larutan DPPH 25 ppm diambil sebanyak 3 mL dimasukan dalam tabung reaksi, kemudian

diinkubasi selama ± 30 menit dalam ruangan gelap pada suhu kamar. Kemudian pada alat spektrofotometer UV-Vis dibuat spektra sinar tampak untuk panjang gelombang 400-700 nm. Dari proses ini akan diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu panjang gelombang dengan nilai adsorbansi paling besar.

• Pengukuran Aktivitas Antioksidan dari Teripang *Holothuria edulis*

Ekstrak pekat metanol teripang *Holothuria edulis* ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan metanol dan dimasukan dalam labu ukur 25 ml, etanol ditambahkan sampai tanda batas. Maka diperoleh konsentrasi induk 200 ppm. Lalu dari konsentrasi induk ini kemudian diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi yaitu sebesar 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm. Dari masing-masing variasi konsentrasi ini dimasukan ke dalam tabung reaksi sebanyak 3 mL dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 25 ppm kemudian dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama ± 30 menit. Setelah mencapai waktu ± 30 menit larutan dipipet sebanyak 4 kali kedalam kuvet dan dilakukan pengukuran panjang gelombang absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 ppm. Aktivitas antioksidan dari masing-masing konsentrasi dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihitung dengan persen inhibisi (% inhibisi) dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

A_{kontrol} = Absorbansi larutan kontrol

A_{sampel} = Absorbansi sampel

Hasil analisa dimasukan pada persamaan regresi linear $y = aX + b$. Nilai regresi ini akan memperoleh nilai IC₅₀, dengan memasukan nilai 50 % pada y sesuai persamaan regresi linear. Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi yang dibutuhkan oleh suatu senyawa antioksidan untuk menurunkan 50% aktivitas radikal DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Zuhra, dkk., 2008).

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang hitam (*Holothuria edulis*) yang diperoleh dari pantai Semau, Nusa Tenggara Timur. Teripang ini memiliki bentuk seperti mentimun,

berwarna hitam dan berbau amis. Sampel yang didapatkan kemudian dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel sehingga tidak mengganggu proses ekstraksi. Teripang hitam (*Holothuria edulis*) lalu di potong kecil-kecil. Setelah itu, dilakukan proses pengeringan pada sampel bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat dalam sampel untuk menghindari tumbuhnya mikroba yang dapat menyebabkan proses pembusukan pada sampel. Kemudian diambil sebanyak 500 gram untuk dilakukan ekstraksi.

Hasil Poses Ekstraksi Maserasi

Proses ekstraksi pada sampel menggunakan metode maserasi sehingga metabolit sekunder dalam teripang hitam (*Holothuria edulis*) dapat terekstrak pada pelarut yang mempunyai sifat kepolaran yang sama. Metode ekstraksi maserasi merupakan metode yang sering digunakan pada proses ekstraksi yang target senyawanya belum jelas dan juga metode maserasi tidak memerlukan suhu yang tinggi sehingga metabolit yang rentan panas tidak rusak.



Gambar 1. Proses Maserasi dan Ekstrak

Ekstraksi metabolit sekunder dilakukan menggunakan pelarut metanol. Metanol merupakan pelarut yang bersifat polar. Metanol mempunyai kemampuan menembus membran sel untuk mengekstrak senyawa intraseluler yang terdapat dalam suatu bahan. Proses maserasi teripang hitam (*Holothuria edulis*) dengan menggunakan pelarut metanol berlangsung selama 5 hari. Setelah maserasi, larutan disaring menggunakan kertas saring biasa untuk memisahkan ampas dan ekstrak metanolnya.

Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak yang sudah terpisah dari pelarutnya. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan vacuum rotary evaporator. Prinsip kerja dari vacuum rotary evaporator yaitu penurunan sehingga pelarut akan menguap terlebih dahulu sebelum mencapai titik didihnya. Menguapnya pelarut dibawah titik didihnya disebabkan adanya pompa vakum yang berfungsi menurunkan tekanan, sehingga pelarut mudah menguap. Hasilnya di dapatkan rendemen sebesar 14,99%.

Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Uji fitokimia digunakan sebagai uji kualitatif untuk mengungkapkan ada atau tidaknya senyawa tertentu dalam sampel. Prinsip dari uji ini yaitu ekstrak teripang hitam yang diperoleh diambil dan ditambahkan oleh beberapa pereaksi uji. Uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu uji alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid atau triterpenoid dan saponin.

Tabel 1 Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak teripang hitam

No	Golongan Senyawa	Perubahan yang diamati	Standar	Keterangan (+)(-)
1	Alkaloid	Ada endapan Kuning	Endapan berwarna kuning	(+)
2	Flavonoid	Warna jingga	Warna jingga	(+)
3	Terpenoid	Cincin cokelat	Cincin cokelat diperbatasan dua pelarut	(+)
4	Steroid	Tidak ada warna biru atau hijau	Warna hijau atau biru	(-)
5	Saponin	Ada busa	Terbentuknya busa	(+)

Keterangan : Simbol (+) : Terdeteksi dan (-) : Tidak terdeteksi

Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui kandungan metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) yaitu golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan saponin. Kandungan senyawa metabolit sekunder golongan fenol, nitrogen (alkaloid, turunan klorofil, asam amino dan amina) dan karotenoid seperti asam askorbat merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai antioksidan alami. Senyawa golongan alkaloid pada ekstrak methanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) diidentifikasi menggunakan reagen meyer. Prinsip dari metode analisis ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya pergantian ligan. Hasil positif alkaloid pada uji meyer ditandai dengan terbentuknya endapan kuning yang diperkirakan sebagai kompleks kalium-alkaloid. Hasil uji fitokimia ekstrak teripang hitam (*Holothuria edulis*) mengandung golongan senyawa triterpenoid. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut saat ditambahkan reagen Lieberman-Burchard. Reagen ini hasil pencampuran anhidrat asetat dan asam sulfat. Sebelum direaksikan dengan reagen Lieberman-Burchard terlebih dahulu ditambahkan kloroform untuk melarutkan senyawa terpenoid, karena larut dengan baik dalam kloroform.

Senyawa terpenoid akan mengalami dehidrasi saat penambahan asam kuat H_2SO_4 , sehingga membentuk ion yang memberikan reaksi warna. Pembentukan warna terjadi akibat reaksi oksidasi pada senyawa terpenoid dengan terbentuknya ikatan rangkap terkonjugasi. Flavonoid merupakan kelompok besar fitokimia yang bersifat melindungi dan banyak terdapat pada buah dan sayuran. Flavonoid sering dikenal sebagai bioflavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Winarsi, 2007). Uji flavonoid dilakukan dengan mereaksikan sampel ekstrak teripang hitam (*Holothuria edulis*) menggunakan pereaksi warna shibata. Hasil uji ini menunjukkan bahwa sampel yang awalnya berwarna oranye berubah menjadi

jingga. Hasil uji menunjukkan bahwa sampel positif mengandung flavonoid. Warna jingga yang terbentuk merupakan warna yang dihasilkan dari pembentukan kompleks antara senyawa flavonoid dan Mg^{2+} . Senyawa kompleks ini terbentuk dari adanya ikatan kovalen koordinasi antara Mg^{2+} dengan atom O dari gugus OH fenolik pada flavonoid.

Uji saponin pada sampel teripang hitam (*Holothuria edulis*) dilakukan dengan cara ditambahkan aquades kemudian dikocok. Hasil dari pengocokan tersebut diamati bahwa terbentuknya busa yang stabil. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung saponin. Terbentuknya busa atau buih ini dikarenakan senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah larut dalam air. Terbentuknya busa atau buih ini dikarenakan senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah larut dalam air. Busa yang terbentuk juga dikarenakan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih di dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) dengan Metode DPPH

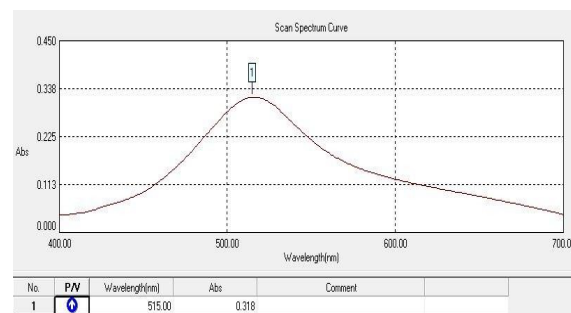
Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH

DPPH merupakan suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan radikal DPPH membentuk DPPH tereduksi. Metode ini sering digunakan karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani, 2005). Proses pengukuran perendaman diawali dengan pembuatan kurva standar DPPH. Pembuatan kurva standar diperoleh dari beberapa tahap, yaitu pertama serbuk DPPH ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dimasukkan dalam gelas kimia. Selanjutnya dilarutkan dalam sedikit metanol p.a untuk melarutkan serbuk, dan dimasukkan dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan dengan metanol hingga tanda. Larutan yang dihasilkan merupakan larutan induk 200 ppm. Tahap selanjutnya larutan induk 200 ppm kemudian di variasikan konsentrasinya menjadi 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm dan 35 ppm. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan cara mengambil 3 mL larutan DPPH 25 ppm, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Tujuan dilakukan inkubasi agar untuk mengoptimalkan reaksi reaksi dalam sampel. Kemudian dibuat spektra sinar tampak pada alat spektrofotometer UV- VIS pada panjang gelombang 400-700 nm. Dipakainya konsentrasi 25 ppm karena merupakan konsentrasi yang berada pada tengah kurva sehingga dapat meminimalisir tingkat eror pada pengukuran kalibrasi. Larutan ini merupakan

larutan kontrol dan pereaksi pada sampel. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan maksimum.

Gambar 2. Panjang gelombang maksimal DPPH

Berdasarkan gambar 2, dapat diketahui panjang



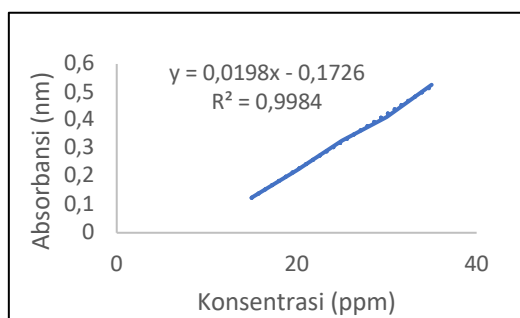
gelombang maksimum DPPH yang akan digunakan dalam proses pengukuran aktivitas antioksidan teripang hitam (*Holothuria edulis*) yaitu 515 nm. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520. Berdasarkan hasil yang didapat maka panjang gelombang dalam tahap ini sesuai dengan teori.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Metanol Teripang Hitam (*Holothuria edulis*)

Sampel ekstrak teripang hitam (*Holothuria edulis*) ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dimasukan dalam gelas kimia. Selanjutnya dilarutkan dalam sedikit methanol p.a untuk melarutkan serbuk, dan dimasukan dalam labu ukur 25 mL. Larutan yang dihasilkan merupakan larutan induk 200 ppm. Tahap selanjutnya larutan induk 200 ppm kemudian di variasikan konsentrasinya menjadi 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm dan 35 ppm. Tujuan pembuatan variasi konsentrasi yaitu untuk melihat hubungan linearitas antara konsentrasi dari sampel dan nilai adsorbansi. Sampel dengan variasi konsentrasi inilah yang kemudian akan direaksikan dengan larutan DPPH 25 ppm.

Tabel 2. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH

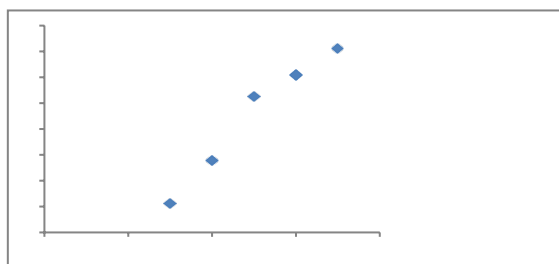
Konsentrasi	Absorbansi
15	0.125
20	0.223
25	0.327
30	0.411
35	0.526



Gambar 3. Kurva standar DPPH

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) Menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2- Picrylhidrazin). Metode ini dipilih karena metode ini merupakan suatu metode pengukuran antioksidan yang relatif sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen. Pengujian dilakukan dengan mereaksikan sampel Ekstrak Metanol Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) dari masing-masing konsentrasi (15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm dan 35 ppm) dengan DPPH 25 ppm. Selanjutnya di- homogenkan dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Absorbansi sampel dan adsorbansi kontrol yang didapatkan kemudian di- hitung untuk mencari nilai IC_{50} yang merupakan parameter yang menunjukkan kemampuan suatu senyawa. Hasil tersebut diplotkan dalam sebuah grafik dan didapatkan suatu persamaan $y = a + bx$ dan diperoleh nilai IC_{50} dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi dan y adalah persentase inhibisi (%). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh grafik hubungan variasi konsentrasi ekstrak dengan % inhibisi yang dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 4. Grafik hubungan % inhibisi dengan konsentrasi

Berdasarkan gambar 3.11 grafik hubungan % inhibisi dan konsentrasi menunjukkan bahwa kurva di atas bersifat linear dan nilai koefisien korelasinya mendekati satu. Persamaan regresi linear digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} diperoleh dari nilai x setelah mengganti $y=50$. IC_{50} merupakan parameter untuk menunjukkan konsentrasi ekstrak sampel uji yang dapat menangkap radikal sebanyak

50 %. Nilai IC_{50} Semakin kecil pada suatu sampel uji maka sen- yawa tersebut semakin aktif sebagai penangkap radikal bebas. Nilai IC_{50} masing- masing konsentrasi ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai IC_{50} dari berbagai konsentrasi (15, 20, 25, 30 dan 35 ppm)

Konsentrasi	Panjang Gelombang Maksimum	Absorbansi Sampel	Blanko	%inhibisi	Persamaan Regresi	IC 50
15	515 nm	0.125	0.142	11.97183099	$y = 0.0198x - 0.1726$ $R^2 = 0.9984$	60
20		0.223	0.242	7.851239669		
25		0.327	0.242	-35.12396694		
30		0.411	0.242	-69.83471074		
35		0.526	0.242	-117.3553719		
Kuat (50 - 100 ppm)						

Nilai % inhibisi yang diperoleh meningkat sesuai bertambahnya konsentrasi larutan. Dengan dilakukan analisis diperoleh nilai IC_{50} sebesar 60. Nilai IC yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan standar Zuhra (2008).

Tabel 4. Tingkat Kekuatan Antioksidan Berdasarkan Nilai nilai IC_{50}

Intensitas	Nilai IC_{50}
Sangat kuat	$IC_{50} < 50 \mu g/ml$
Kuat	500-100 ppm
Sedang	100-150 ppm
Lemah	$IC_{50} > 151 ppm$

Perbandingan antara nilai IC_{50} hasil ekstrak dengan Tabel Zuhra menunjukkan ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) yang diperoleh dari pantai semau, Nusa Tenggara Timur dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak teripang uji memiliki metabolit sekunder dengan kadar tinggi, sehingga menjadi faktor yang mempengaruhi tingginya aktivitas antioksidan. Pada uji identifikasi fitokimia memberikan hasil positif mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin. Komponen fenolik (flavonoid dan tanin), alkaloid dan terpenoid dapat berperan sebagai antioksidasi. Keberadaan gugus hidroksil pada senyawa fenol dan flavonoid men- imbulkan aktivitas antiosidan, karena dapat mendonorkan satu atom Hidrogen (H).

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan pembahasan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) yaitu alkaloid, triterpenoid, flavonoid, dan saponin.
2. Aktivitas antioksidan ekstrak

metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) yang di uji dengan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 60 ppm.

3. Potensi ekstrak metanol teripang hitam (*Holothuria edulis*) asal perairan pantai Semau tergolong kuat karena nilai IC50 sebesar 60 ppm.

Daftar Pustaka

- Arnold, P. W., and R. A. Birtles. "Soft-sediment marine invertebrates of Southeast Asia and Australia." A guide to identification (1989).
- Fajriah, S., Darmawan, A., Sundonowo, A., & Artanti, N. 2007. *Isolasi senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun benalu (Dehdrophthoe pentandra L. Mig) yang tumbuh pada inang Loibi-lobi*
- Fitria Apriliani Ramdani, dkk. "Penentuan Aktivitas Antioksidan Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Produk olahannya Berupa Manisan Pepaya". Jurnal Sains dan Teknologi Kimia 4, no. 2 (2013): h. 116.
- Ghufron, M., dan Kordi, H.K. (2010). A to Z Budi Daya Biota Akuatik untuk Pangan, Kosmetik dan Obat-obatan. Yogyakarta: Lily Publisher. Hal. 24- 36,39.
- Hanani, E. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu. Departemen Farmasi FMIPA-UI Depok.
- Hanani, E., Mun'im, A. & Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* sp Dari Kepulauan Seribu, Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. II
- Inayah, N. Ningsih, R. Adi, T. K., 2012. Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktifitas Ekstrak Etanol dan N-Heksana Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Kering Pantai Kenjeran Surabaya. Malang: Jurusan Kimia UIN Maliki Malang.
- Rahmi, A. *Uji Antioksidan dengan Metode 1,1 – Difenil – 2- Pikrilhidrazil (DPPH) dan Uji Terpenoid Terhadap Ekstrak Acanthaster* . Jakarta. Universitas Indonesia. 2012
- Rita, A., Tania, S. U., Heri, H, Albana, A. M. & Rini, R.2009. *Produksi antioksidan dari daun simpur (Dillenia indica) menggunakan metode ekstraksi tekanan tinggi dengan sirkulasi pelarut*. Prosiding seminar Nasional Teknik kimia Indonesia; Bandung: Perhimpunan Teknik Kimia Indonesia.
- Saleh, L. P., Suryanto, E. & Yudistara, A. 2005. *Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Jagung (Zea mays L.)*. Jurnal Kimia. 2(4):20-28.
- Wafa, J. A., Adi, T. K., Hanapi, A., Fasya, A. G. 2014. *Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kasar Teripang Pasir (Holothuria scabra) dari Pantai Kenjeran Surabaya*. Jurnal Alchemy, 3 (1): 76 – 83
- Winarsi H, 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan*. Yogyakarta. Kanisius.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. *Analisa Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan*. Makara, Sains.
- Zuhra, dkk. 2008. *Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (Sauropus androgonus (L)V Merr.)*. Jurnal Biologi Sumatera Vol. 3