

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KANDUNGAN TOTAL FENOLIK PADA EKSTRAK TERIPANG (*Holothroidea*)**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS OF SEA CUCUMBER (*Holothroidea*) EXTRACT**

**Fadli Husain<sup>1</sup>, Fitriah Ayu Magfirah Yunus<sup>1\*</sup>, Insyira Fadliana Basri<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi D III Farmasi, Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Gorontalo  
Jl. Taman Pendidikan Gorontalo

\*EmailCorresponding: [ayumagfirah1603@gmail.com](mailto:ayumagfirah1603@gmail.com)

Submitted: 8 December 2022

Revised: 25 April 2023

Accepted: 9 May 2023

**ABSTRAK**

Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki sifat reaktif. Senyawa ini mudah bereaksi dengan molekul lain dengan cara mengoksidasi sehingga dapat menimbulkan pengaruh negatif terhadap tubuh antara lain mengakibatkan kerusakan lipida, protein, DNA dan membran sel. Adanya radikal bebas menyebabkan tubuh membutuhkan zat penting yang dapat menangkap radikal bebas, yaitu antioksidan. Senyawa antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah terjadinya proses oksidasi. Teripang merupakan salah satu produk laut yang memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa yang terdapat pada teripang telah dibuktikan secara ilmiah dapat meredam radikal bebas yang menyebabkan berbagai penyakit degeneratif. Beberapa senyawa diantaranya adalah triterpen glikosida (saponin), kondroitin sulfat, glycosaminoglycans (GAGs), fenolik, dan asam lemak esensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total dalam ekstrak teripang yang berasal dari perairan Patoameme Kab. Boalemo Gorontalo. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium yang akan dilaksanakan di Gorontalo dan Makassar. Hasil yang didapatkan bahwa ekstrak etanol teripang mengandung senyawa fenol dan flavonoid, serta hasil pengujian aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode ABTS, BCB, dan DPPH menunjukkan hasil IC<sub>50</sub> berturut-turut yaitu 91,4 µg/mL, 152,91 µg/mL, 233,6 µg/mL. Sedangkan pada metode FRAP menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang memiliki kemampuan dalam mereduksi besi sebesar 7,629±0,10 QEAC/g ekstrak.

**Kata kunci** : teripang, antioksidan, fenolik, DPPH

**ABSTRACT**

*Free radicals are compounds that have reactive properties. This compound easily reacts with other molecules by oxidizing them, so it can have a negative effect on the body, including causing damage to lipids, proteins, DNA, and cell membranes. The existence of free radicals causes the body to need important substances that can capture free radicals, namely antioxidants. Antioxidant compounds are substances that can prevent the oxidation process. Sea cucumbers are one of the marine products that have antioxidant activity. Compounds found in sea cucumbers have been scientifically proven to be radicals, or free radicals, which cause various degenerative diseases. Some of these compounds are triterpene glycosides (saponins), chondroitin sulfates, glycosaminoglycans (GAGs), phenolics, and essential fatty acids. This study aims to determine the antioxidant activity and total phenolic content of sea cucumber extracts from Patoameme waters, Kab. Boalemo Gorontalo. This research is a type of laboratory experimental research that will be carried out in Gorontalo and Makassar. The results obtained were that the ethanol extract of sea cucumbers contained phenol and flavonoid compounds, and the results of the antioxidant*

activity tests tested by the ABTS, BCB, and DPPH methods were, respectively, 91 g/mand1233.6 g/mL and 233.6 g/mL. Whereas the FRAP method showed that the ethanol extract of sea cucumbers had the ability to reduce iron by 7.629 0.10 QEAC/g extract.

**Keywords:** sea cucumbers, antioxidants, phenolic, DPPH

## PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki efek dapat memperlambat, dan mencegah proses oksidasi. Senyawa ini mampu mencegah terbentuknya reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid. Beberapa contoh senyawa antioksidan sintetik seperti BHA (*butylated hydroxy aniline*) dan BHT (*butylated hydroxy toluen*) diketahui memiliki efek samping yang besar seperti kerusakan hati (Kikuzaki *et al.*, 2002). Radikal bebas adalah molekul dengan satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbit terluar, sangat reaktif dan tidak stabil (Pratama and Busman, 2020). Radikal bebas dapat merusak biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein dan DNA, menyebabkan peningkatan stres oksidatif seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes, penyakit kardiovaskular, metabolisme, penuaan dini bahkan kanker (Maharani *et al.*, 2021). Adanya radikal bebas menyebabkan tubuh membutuhkan zat penting yang dapat menangkap radikal bebas, yaitu antioksidan. Antioksidan termasuk senyawa pendonor elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan elektron pada senyawa radikal bebas sehingga dapat menghambat aktivitas radikal bebas tersebut (Hani and Milanda, 2021).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan terbagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim yang bersifat antioksidan seperti *glutathione peroksidase* (Gpx), katalase (Cat), dan *Superoksida Dismutase* (SOD), serta antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh seperti dari makanan (Werdhasari, 2014). Antioksidan alami dapat diperoleh dari organisme darat dan laut. Teripang merupakan salah satu produk laut yang memiliki aktivitas antioksidan. Beberapa teripang komersial yang sudah diketahui manfaatnya antara lain *Holothuria scabra* (teripang putih atau pasir), *Holothuria edulis* (teripang hitam), *Holothuria vacabunda* (teripang getah atau keling), *Holothuria vatiensis* (teripang merah) dan *Holothuria marmorata* (teripang cokelat). Keefektifan senyawa yang terdapat pada teripang telah terbukti secara ilmiah dalam meredam radikal bebas dan mencegah berbagai penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas berlebih. Beberapa senyawa diantaranya adalah triterpen glikosida (saponin), kondroitin sulfat, *glycosaminoglycans* (GAGs), fenolik, dan asam lemak esensial (Soltani *et al.*, 2014). Penelitian oleh Rasyid (2012), melaporkan bahwa teripang *Stichopus hermannii* berpotensi sebagai antioksidan dengan hasil IC<sub>50</sub> yaitu 65,08 ppm. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Nobsathian *et al.* (2017), aktivitas antioksidan pada *Holothuria scabra* memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 33,77 ± 0,24 mg/ml. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, membuktikan bahwa teripang berpotensi sebagai agen antioksidan. Selain itu, penelitian tentang aktivitas antioksidan pada spesies teripang non komersial yang berasal dari Perairan Patoameme Kab. Boalemo belum pernah dilakukan. Berdasarkan pertimbangan tersebut maka penelitian ini perlu dilakukan agar menjadi upaya dalam mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam dari perairan di Indonesia yaitu dengan melakukan pengujian aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik pada teripang yang ditemukan di Perairan Patoameme Kabupaten Boalemo Gorontalo.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah alat-alat gelas, pipet tip, pisau, gunting, *cool box*, *rotary evaporator*, talenan, botol vial, timbangan digital (Sartorius), mikropipet (Dragonlab), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1900), Vortex (gemmy industrial), dan Oven (memmert).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu teripang pasir (*Holothuria scabra*), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Sigma-Aldrich), etanol 95% (Onemed), etanol 70% (Onemed), kuersetin (Sigma-Aldrich), dan asam galat (Sigma-Aldrich), FeCl<sub>3</sub> (Merck),

aquades (Onemed), folin ciocalteau (Merck),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck),  $\text{AlCl}_3$  (Merck), metanol (Merck), asam askorbat (Merck), ABTS (2,2-azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) (Sigma-Aldrich), kalium persulfat (Merck), BCB ( $\beta$ -carotene Bleaching) (Sigma-Aldrich), kloroform (Merck), asam linoleat (Merck), tween 20 (Merck), asam asetat (Merck), TPTZ (tripiryridilstriazine) (Merck).

### Prosedur Penelitian

#### 1. Pengambilan Sampel

Sampel teripang pasir (*Holothuria scabra*) dikumpulkan dari perairan pantai Potaomeme, Kec. Botumoito, Kab, Boalemo, Provinsi Gorontalo

#### 2. Proses Ekstraksi Teripang

Pembuatan ekstrak etanol teripang basah yaitu sebanyak 5 kg teripang yang sudah dikeringkan direndam dengan etanol 96% sebanyak 3 liter selama 3 hari lalu disaring. Ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental menggunakan *rotary evaporator*.

#### 3. Analisis Kualitatif Senyawa Fenol

Senyawa fenolik dapat analisis menggunakan reagen  $\text{FeCl}_3$  1%. Sampel diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif apabila menunjukkan warna merah, hijau, biru, ungu, atau hitam yang kuat (Harborne, 1987).

#### 4. Pengujian Kadar Fenolik Total

Pengujian kadar total fenolik menggunakan asam galat sebagai standar yang dibuat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm. Masing-masing konsentrasi dilarutkan dalam 5 ml aquades dan ditambahkan 0,5 ml reagen folin ciocalteau 50% (v/v) lalu didiamkan selama 5 menit dan ditambahkan 1 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5%. Larutan diaduk sampai homogen lalu diinkubasi selama 1 jam dalam kondisi gelap. Sampel diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 671 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya, masing-masing ekstrak etanol teripang diambil sebanyak 5 mg, kemudian dilarutkan dalam 2 ml etanol 95% lalu ditambahkan 5 mL aquades dan 0,5 mL reagen folin ciocalteau (v/v). Kemudian diamkan selama 5 menit lalu tambahkan 1 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5%. Campuran larutan yang sudah homogen selanjutnya diinkubasi selama 1 jam dalam kondisi gelap lalu dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-V dengan panjang gelombang yang sama untuk menentukan nilai absorbansinya (Avigail, Yudiati and Pringgenies, 2019).

#### 5. Pengujian Kadar Flavonoid

Sebanyak 25 mg kuersetin dilarutkan menggunakan 25 ml etanol 70% ke dalam labu ukur. Dicukupkan hingga batas garis labu ukur (1000 ppm). Larutan baku kuersetin dipipet sebanyak 2,5 ml dari 1000 ppm kemudian diencerkan dengan menggunakan etanol 70% hingga 100 ml. Dipipet 0,6 ml larutan standar 100 ppm dan ditambahkan etanol 70% hingga 10 ml (6 ppm). Selanjutnya diukur pada panjang gelombang maksimum. Dipipet masing-masing pengenceran dari larutan standar 100 ppm. Dipipet ke dalam vial dengan konsentrasi 0,2 ml (2 ppm), 0,4 ml (4 ppm), 0,6 ml (6 ppm), 0,8 ml (8 ppm), dan 1ml (10 ppm). Kemudian ditambahkan 3 ml etanol 70%, 0,2 ml  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,2 ml asam asetat 1 M dan 5 ml aquades. Campuran dihomogenkan lalu dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar kemudian diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 300-600 nm. Masing-masing dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan diperoleh persamaan regresi (Syarifuddin and Dewi, 2022).

Ekstrak etanol teripang dibuat dengan konsentrasi berbeda yaitu 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm. Pipet 1 ml ekstrak etanol teripang kemudian ditambahkan 1 ml kalium asetat 120 mM dan 1 ml larutan  $\text{AlCl}_3$  2. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 1 jam. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 435 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dilakukan sebanyak 3 kali untuk memperoleh nilai rata-rata absorbansi (Aminah, Tomayahu and Abidin, 2017)

## 6. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan 4 metode berbeda. Metode pertama yaitu metode DPPH dengan cara menimbang DPPH sebanyak 6 mg dan dilarutkan dalam metanol sebanyak 60 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm. Proses pembuatan larutan DPPH harus terlindungi dari cahaya matahari dan suhu rendah. Larutan blanko dibuat dengan mencampur 4,5 mL metanol dengan 0,5 mL DPPH. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm. Senyawa pembanding yang dipakai adalah asam askorbat. Larutan sampel ekstrak etanol teripang dibuat dalam konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm. Larutan sampel masing-masing diambil 4,5 mL dan direaksikan dengan 0,5 mL larutan DPPH dalam botol vial yang berbeda dan diberi label. Campuran tersebut diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Dehwie, Sumarto and Dahlia, 2021).

Metode kedua yaitu metode ABTS dilakukan berdasarkan metode (Shalaby and Shanab, 2013). Larutan ABTS dibuat dengan mencampurkan 5 ml larutan stok ABTS 7 mM dan 5 ml larutan kalium persulfat 2,45 mM, campuran diinkubasi selama 12-16 jam. Larutan ABTS ditambahkan etanol 70% sampai diperoleh nilai absorbansi  $0,7 \pm 0,02$  pada panjang gelombang 745 nm. Dipipet 0,1 ml larutan ekstrak etanol teripang dari masing-masing konsentrasi yaitu 50,100,150,200 dan 250 ppm lalu dicampur dengan 0,9 ml larutan ABTS. Campuran diinkubasi selama 6 menit pada ruang gelap lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 745 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran direplikasi sebanyak tiga kali dengan pembanding yaitu vitamin C.

Metode ketiga adalah metode BCB ( $\beta$ -carotene Bleaching) dilakukan dengan menimbang sebanyak 2 mg serbuk  $\beta$ -carotene lalu dilarutkan dalam 0,2 ml kloroform dan ditambahkan 0,2 ml asam linoleat, 2 ml tween 20 dan aquadest hingga 100 ml lalu divortex sampai larutan transparan. Selanjutnya dipipet 180  $\mu$ L larutan  $\beta$ -carotene dan dicampurkan pada sampel ekstrak etanol teripang dengan masing-masing konsentrasi 50,100,150,200 dan 250 ppm dan diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 450 nm setelah di inkubasi dengan suhu 50° C selama 20 menit. Pengukuran dilakukan monitoring selama 2 jam dengan interval 30 menit. Aktivitas antioksidannya dihitung berdasarkan perbedaan degradasi sampel dengan blanko yaitu larutan  $\beta$ -carotene (Nur, Rumiayati and Lukitaningsih, 2017).

Metode keempat yaitu pengujian FRAP. Dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan kuersetin sebagai senyawa pembanding, dengan panjang gelombang yaitu 593 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan melakukan plot hasil pengujian antioksidan dengan metode FRAP pada konsentrasi larutan standar 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 ppm. Untuk pengujian sampel, sebanyak 1 mL ekstrak etanol teripang dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan sebanyak 3 mL pereaksi FRAP. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, semua larutan uji dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang yaitu 593 nm spektrofotometer UV-Vis. Pereaksi FRAP dibuat dengan cara mencampurkan 25 mL bufer asetat, 2,5 mL larutan 2,4,6-tripyridilstriazine (TPTZ) dan 2,5 larutan  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , lalu ditambahkan akuades hingga tepat 100 ml dalam labu takar (Yuliawati and Maharani, 2022).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### a. Ekstraksi Teripang

Teripang dibersihkan dengan mengeluarkan jeroanya. Selanjutnya dikeringkan dan dihaluskan menjadi simplisia dengan berat awal 136 gram lalu dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 3 liter selama 3x24 jam. Hasil filtrat kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 38°C hingga membentuk ekstrak kental sebesar 1391 mg dengan persen rendemen yaitu 9,78%. Hasil proses ekstraksi dapat dilihat pada **Tabel I**.

**Tabel I.** Hasil Proses Ekstraksi Teripang

Berat Sampel (g)	Volume Filtrat (ml)	Berat Ekstrak (mg)	Rendemen (%b/b)
136	300	1391	9,78

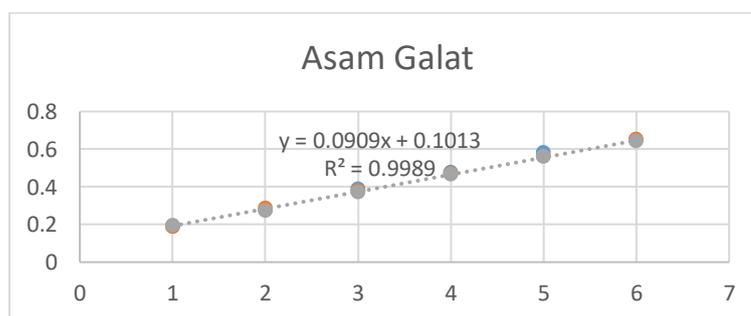
**b. Analisis Kualitatif Senyawa Fenol**

Uji kualitatif bertujuan untuk dapat mengetahui komponen kimia pada sampel uji. Analisis senyawa fenolik menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Hasil positif apabila terbentuk warna merah, hijau, biru, ungu, atau hitam yang membuktikan adanya kandungan senyawa fenolik sampel. Hasil yang didapatkan terbentuk warna hijau kehitaman. Senyawa fenolik yang terdapat pada  $\text{FeCl}_3$  akan membentuk kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  dan bereaksi dengan gugus  $-\text{OH}$  (Andy Suryadi *et al.*, 2021).

**c. Kadar Fenolik Total**

Kandungan fenolik total ditentukan untuk menguji aktivitas antioksidan pada sampel karena senyawa tersebut berperan dalam mencegah terjadinya proses oksidasi (Avigail, Yudiati and Pringgenies, 2019). Pada penelitian ini, analisis kandungan fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri dengan standar yaitu asam galat. Metode ini sering digunakan dalam penentuan kandungan fenolik total dengan menggunakan pereaksi folin ciocalteau, karena folin dapat bereaksi dengan senyawa fenolik membentuk larutan yang dapat diukur serapannya (Tahir and Syafrianti, 2017).

Larutan standar yang digunakan dalam analisis kadar fenolik total adalah asam galat karena merupakan turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana dan stabil. Asam galat yang direaksikan dengan pereaksi folin ciocalteau dalam suasana basa dengan penambahan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  akan menghasilkan warna biru. Dalam reaksi, gugus  $-\text{OH}$  aromatik bereaksi dengan folin ciocalteau dan membentuk senyawa berwarna biru yaitu molibdenum-tungsten dan dapat diukur absorbansinya. Semakin tinggi konsentrasi senyawa fenolik, semakin banyak ion fenolik yang direduksi menjadi kompleks molibdenum-tungsten oleh heteropoliasam (fosfomolibdat-fosfotungsten), sehingga warna yang dihasilkan menjadi lebih pekat (Tahir and Syafrianti, 2017). Hasil pengujian kadar fenolik yang didapatkan berwarna biru kehitaman dan untuk hasil pengukuran absorbansi asam galat dapat dilihat pada Gambar 1 yaitu kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi.

**Gambar 1.** Kurva regresi linear Asam Galat**Tabel II.** Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak Etanol Teripang

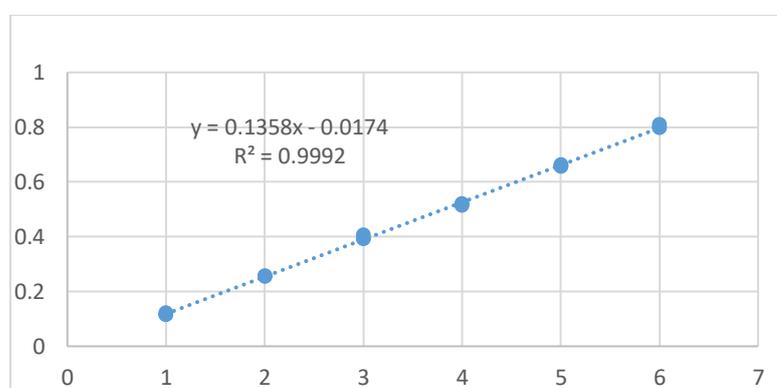
Replikasi	Abs	Nilai X	B.S (mg)	V.S	FP	Kadar	%EA G	SD
R1	0,435	3,67	25	50	2,5	1,83	1,88	0,065
R2	0,457	3,913	25	50	2,5	1,95		
R3	0,438	3,704	25	50	2,5	1,85		

Persamaan regresi linear yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk menetapkan kadar fenolik dari ekstrak teripang. **Tabel I** merupakan hasil penetapan kadar fenolik dari ekstrak teripang. Hasil pengujian kadar fenolik total dari ekstrak etanol teripang sebesar  $1,88 \pm 0,065$  mg/g ekstrak yang ekuivalen terhadap asam galat.

#### d. Kadar Flavonoid Total

Flavonoid adalah senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan karena mampu melawan radikal bebas yang berperan dalam perkembangan penyakit tidak menular dengan cara merusak sistem imun tubuh, mengoksidasi protein dan lipid (Ridwan Rais, 2015). Penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96% teripang laut (*Holothuria scabra*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis karena flavonoid mengandung gugus aromatik terkonjugasi yang memiliki daya serap kuat di area spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Aminah and Abidin, 2017).

Standar yang digunakan dalam penentuan flavonoid adalah kuersetin yang merupakan gugus flavonol dari flavonoid (Azizah and Faramayuda, 2014). Dari hasil pengukuran absorbansi larutan baku kuersetin dibuat kurva kalibrasi untuk hubungan antara konsentrasi (C) dan absorbansi (A), dan diperoleh persamaan regresi linier.



**Gambar 2.** Kurva regresi linear Kuersetin

**Tabel III.** Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol Teripang

Replikasi	Abs	Nilai X	B.S (mg)	V.S	FP	Kadar	%EAG	SD
R1	0,386	2,971	25	50	1,7	1,010		
R2	0,391	3,007	25	50	1,7	1,023	1,010	0,013
R3	0,381	2,934	25	50	1,7	0,997		

Persamaan regresi linear yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk menetapkan kadar Flavonoid dari ekstrak teripang. Pada **Tabel II** merupakan hasil penetapan kadar flavonoid dari ekstrak teripang. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang memiliki kadar flavonoid total sebesar  $1,01 \pm 0,013$  mg/g ekstrak ekuivalen terhadap kuersetin.

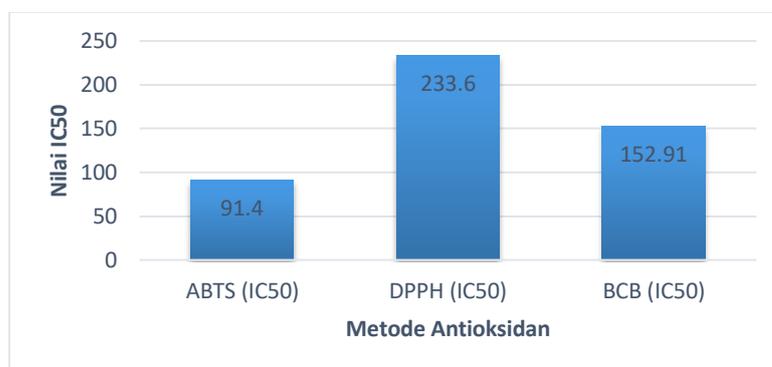
#### e. Aktivitas Antioksidan

Metode pengujian antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai  $IC_{50}$  menggunakan 3 metode pengujian yaitu DPPH, ABTS, dan BCB. Selain itu juga dilakukan pengujian dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Penggunaan beberapa metode dalam menguji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini untuk mengetahui sifat-sifat antioksidan yang ada dalam sampel dan mengidentifikasi mekanisme kerja masing-masing antioksidan (Maryam *et al.*, 2016).

Metode DPPH yaitu dengan mengukur daya peredaman ekstrak terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang merupakan radikal bebas. DPPH akan bereaksi

dengan atom hidrogen yang terdapat dalam antioksidan dan membentuk DPPH yang stabil (Faisal, 2019). Selain itu digunakan juga metode ABTS (2,2'azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) yang merupakan metode eksperimental untuk mengukur jumlah radikal bebas yang dapat ditangkap oleh antioksidan yang dikenal dengan aktivitas antioksidan (Serlahwaty and Sevia, 2016). Metode BCB ( $\beta$ -Carotene Bleaching) memiliki prinsip penentuan aktivitas antioksidan berdasarkan kemampuan dari suatu antioksidan dalam mencegah terjadinya perubahan warna jingga dari karotenoid akibat proses oksidasi (Wardaniati and Taibah, 2019).

Keempat metode pengujian yang diaplikasikan dalam penelitian ini pada prinsipnya melalui mekanisme penghambatan melalui *Single Electron Transfer* (SET), *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) dan kombinasi keduanya. Berdasarkan hasil pengujian bioaktivitas antioksidan diperoleh hasil yang bervariasi tergantung dari kemampuan senyawa dalam meredam radikal maupun mereduksi besi. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat pada **Gambar 3**.



**Gambar 3.** Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Teripang dengan Metode ABTS, DPPH dan BCB

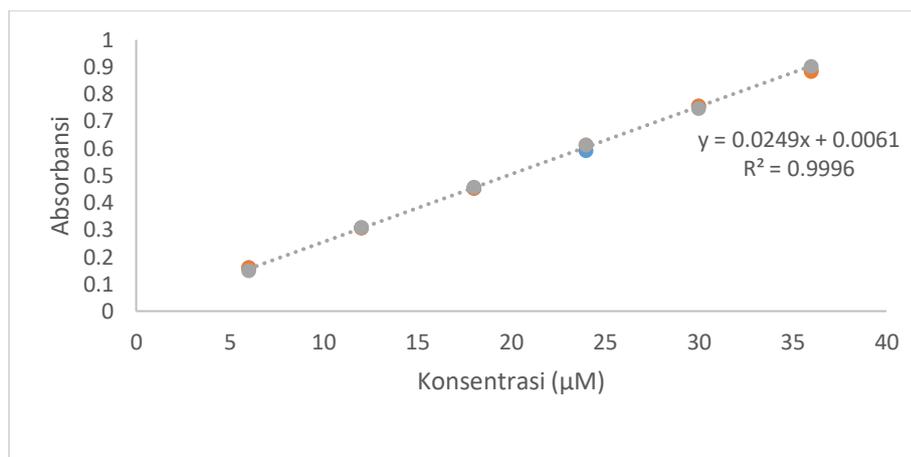
Aktivitas antioksidan dalam meredam radikal ABTS, DPPH dan BCB dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration*). Apabila nilai IC<sub>50</sub> semakin kecil menunjukkan bahwa dengan konsentrasi yang rendah memiliki kemampuan yang besar dari senyawa dalam menghambat radikal hingga 50%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang memiliki kemampuan yang kuat dalam menghambat radikal ABTS sebesar 91,4  $\mu\text{g/ml}$  dan kemampuan yang sedang dalam menghambat radikal peroksidasi lipid BCB sebesar 152,91  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan pada metode DPPH ditemukan adanya aktivitas yang lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 233,6  $\mu\text{g/ml}$ . Apabila nilai IC<sub>50</sub> <50  $\mu\text{g/ml}$  dikategorikan sangat kuat, nilai IC<sub>50</sub> 50-100  $\mu\text{g/ml}$  kategori kuat, nilai IC<sub>50</sub> 101-150  $\mu\text{g/ml}$  kategori sedang, dan IC<sub>50</sub> 151-200  $\mu\text{g/ml}$  kategori lemah (Maulidha and Masruhim, 2015). Adanya perbedaan kemampuan dari ekstrak etanol teripang dapat dipengaruhi oleh kandungan kimia dari ekstrak tersebut.

Pada pengujian aktivitas antioksidan dalam mereduksi besi menggunakan metode FRAP dinyatakan dalam *Quersetin Ekuivalen Antioxidant Capacity* (QEAC). Prinsip uji FRAP adalah kemampuan antioksidan untuk mereduksi kompleks besi ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dari ferryl tripyridyl triazine (TPTZ) menjadi kompleks besi ( $\text{Fe}^{2+}$ ), yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru (Aryanti and Syamsudin, 2021). Semakin besar nilai QEAC menunjukkan bahwa ekstrak tersebut semakin kuat dalam mereduksi besi yang berarti bahwa kemampuan antioksidannya juga semakin kuat. Nilai QEAC diperoleh dari persamaan regresi linear kuersetin **Gambar 4**. Berdasarkan hasil persamaan regresi linear tersebut diperoleh nilai FRAP dari ekstrak etanol teripang yang diekspresikan sebagai QEAC/g ekstrak. Nilai FRAP dari ekstrak dapat dilihat pada **Tabel III**, menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang memiliki kemampuan dalam mereduksi besi sebesar  $7,629 \pm 0,10$  QEAC/g ekstrak. Hal ini berarti bahwa setiap 1 gram ekstrak

mampu mereduksi besi TPTZ-Fe<sup>3+</sup> menjadi TPTZ-Fe<sup>2+</sup> sebesar 7,629  $\mu$ M yang diekivalensikan sebagai kuersetin.

**Tabel IV.** Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Teripang dengan Metode FRAP

Replikasi	Abs	Nilai X	B.S (mg)	V.S	FP	Nilai FRAP	FRAP	SD
R1	0,386	15,257	25	50	2,5	7,629		
R2	0,391	15,458	25	50	2,5	7,729	7,629	0,100
R3	0,381	15,056	25	50	2,5	7,528		



**Gambar 4.** Kurva Kalibrasi Kuersetin

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang mengandung senyawa yang bersifat sebagai antioksidan yaitu fenol dan flavonoid, serta hasil pengujian aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode DPPH, ABTS, BCB dan FRAP menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang memiliki kemampuan yang kuat dalam menghambat radikal ABTS sebesar 91,4  $\mu$ g/mL, kemampuan yang sedang dalam menghambat radikal peroksidasi lipid BCB sebesar 152,91  $\mu$ g/mL, pada metode DPPH ditemukan adanya aktivitas yang lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 233,6  $\mu$ g/mL. Sedangkan pada metode FRAP menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang memiliki kemampuan dalam mereduksi besi sebesar 7,629 $\pm$ 0,10 QEAC/g ekstrak. Untuk metode DPPH tergolong lemah, sehingga perlu dilakukan pengujian kembali menggunakan pelarut yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, A., Tomayahu, N. and Abidin, Z. (2017) 'Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), pp. 226–230. doi: 10.33096/jffi.v4i2.265.
- Andy Suryadi, A. *et al.* (2021) 'Determination of Sun Protection Factor (SPF) Value in Lime (*Citrus aurantifolia*) Peel Extract Using UV-Vis Spectrophotometry Method', *Jambura Journal of Health Sciences and Research*, 3(2), pp. 169–180. doi: 10.35971/jjhsr.v3i2.10319.
- Aryanti, R., Perdana, F. and Syamsudin, R. A. M. R. (2021) 'Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)', *Jurnal Surya Medika*, 7(1), pp. 15–24. doi: 10.33084/jsm.v7i1.2024.
- Avigail, Y., Yudiati, E. and Pringgenies, D. (2019) 'Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Pada Teripang di Perairan Karimunjawa, Jepara', *Journal of Marine*

- Research*, 8(4), pp. 346–354. doi: 10.14710/jmr.v8i4.24600.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E. and Faramayuda, F. (2014) ‘Penetapan Kadar Flavonoid Metode  $AlCl_3$  pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.)’, *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), pp. 45–49. doi: 10.26874/kjif.v2i2.14.
- Dehwie, T., Sumarto, S. and Dahlia, D. (2021) ‘Aktivitas Antioksidan Kulit, Kitin dan Kitosan Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)’, *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 13(1), pp. 37–42. doi: 10.17969/jtipi.v13i1.19056.
- Faisal, H. (2019) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS’, *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, 2 (1), pp. 1–5.
- Hani, R. C. and Milanda, T. (2021) ‘Review: Manfaat Antioksidan pada Tanaman Buah di Indonesia’, *Farmaka*, 14(1), pp. 184–190. doi: <https://dx.doi.org/10.24198/jf.v14i1.10735>.
- Kikuzaki, H. *et al.* (2002) ‘Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), pp. 2161–2168. doi: 10.1021/jf011348w.
- Maharani, A. I. *et al.* (2021) ‘Peran Antioksidan Alami Berbahan Dasar Pangan Lokal dalam Mencegah Efek Radikal Bebas’, *Prosiding Seminar Nasional Bio*, 1(2), pp. 390–399.
- Maryam, S. *et al.* (2016) ‘Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha multifida* L.) dengan Metode *Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC)’, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(1), pp. 90–93. doi: 10.33096/jffi.v2i1.185.
- Maulidha, N., Fridayanti, A. and Masruhim, M. A. (2015) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Piper* sp.) terhadap DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)’, *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(1), pp. 16–20. doi: 10.25026/jsk.v1i1.10.
- Nobsathian, S. *et al.* (2017) ‘An Antioxidant Activity of The Whole Body of *Holothuria scabra*’, *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(1), pp. 17–21. doi: 10.1186/s40538-017-0087-7.
- Nur, S., Rumiayati and Lukitaningsih, E. (2017) ‘Screening of Antioxidants, Anti-Aging and Tyrosinase Inhibitory Activities of Ethanolic and Ethyl Acetate Extracts of Fruit Flesh and Fruit Peel Langsung (*Lansium domesticum* Corr) in Vitro’, *Traditional Medicine Journal*, 22(1), pp. 63–72. doi: <https://doi.org/10.22146/tradmedj.24342>.
- Pratama, A. N. and Busman, H. (2020) ‘Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine max* L) terhadap Penangkapan Radikal Bebas’, *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), pp. 497–504. doi: 10.35816/jiskh.v11i1.333.
- 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), pp. 360–368. Available at: [http://itk.fpik.ipb.ac.id/ej\\_itkt42](http://itk.fpik.ipb.ac.id/ej_itkt42).
- Ridwan Rais, I. (2015) ‘Isolasi dan Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Ness)’, *Pharmaciana*, 5(1), pp. 100–106. doi: 10.12928/pharmaciana.v5i1.2292.
- Serlahwaty, D. and Sevian, A. N. (2016) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Kombinasi Buah Strawberry dan Tomat dengan Metode ABTS’, in *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50*. Samarinda, pp. 322–330. Available at: <https://prosiding.farmasi.unmul.ac.id/index.php/mpc/article/view/128/126>.
- Shalaby, E. A. and Shanab, S. M. M. (2013) ‘Comparison of DPPH and ABTS Assays for Determining Antioxidant Potential of Water and Methanol Extracts of *Spirulina platensis*’, *Indian Journal of Marine Sciences*, 42(5), pp. 556–564.
- Soltani, M. *et al.* (2014) ‘Hemolytic and Cytotoxic Properties of Saponin Purified from *Holothuria leucospilota* Sea Cucumber’, *Reports of biochemistry & molecular biology*, 3(1), pp. 43–50.

- Syarifuddin, K. A. and Dewi, A. (2022) 'Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Tempuyung (*Sonchus arvensis*) dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *FitoMedicine:JournalPharmacyandSciences*, 12(2), pp. 69–76.
- Tahir, M., Muflihunna, A. and Syafrianti, S. (2017) 'Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), pp. 215–218. doi: 10.33096/jffi.v4i1.231.
- Wardaniati, I. and Taibah, S. (2019) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bee Pollen Lebah Trigona (*Trigona itama*)', *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 3(1), pp. 21–28. doi: 10.36341/jops.v3i1.1103.
- Werdhasari, A. (2014) 'Peran Antioksidan Bagi Kesehatan', *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2), pp. 59–68. doi: <https://doi.org/10.22435/jbmi.v3i2.1659>.
- Yulawati, K., Lukmayani, Y. and Maharani Patricia, V. (2022) 'Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode FRAP dan Penentuan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Air Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)', *Journal of Pharmacopolium*, 5(2), pp. 205–210. Available at: [https://ejurnal.universitاس-bth.ac.id/index.php/P3M\\_JoP/article/view/917](https://ejurnal.universitاس-bth.ac.id/index.php/P3M_JoP/article/view/917).