

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI AWAL
GOLONGAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK KASAR
METANOL DAN *n*-HEKSANA TERIPANG *Holothuria atra* PANTAI
WEDI IRENG BANYUWANGI**

SKRIPSI

Oleh:
AHMAD BAIDOWI
NIM. 12630092



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI AWAL
GOLONGAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK KASAR
METANOL DAN *n*-HEKSANA TERIPANG *Holothuria atra* PANTAI
WEDI IRENG BANYUWANGI**

SKRIPSI

Oleh:
AHMAD BAIDOWI
NIM. 12630092

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Pembimbing I



Rachmawati KINGSIH, M.Si
NIP. 198108112008012010

Pembimbing II



Umaiyatus Svarifah, M.A
NIP. 198209252009012005

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia



Elok KAMILAH Hayati, M.Si
NIP 197906202006042002

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IDENTIFIKASI AWAL
GOLONGAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK KASAR
METANOL DAN *n*-HEKSANA TERIPANG *Holothuria atra* PANTAI
WEDI IRENG BANYUWANGI**

SKRIPSI

Oleh:
AHMAD BAIDOWI
NIM. 12630092

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)

Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M.Si
NIP. 19770925 200604 1 003

Ketua Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

Sekretaris Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

Anggota Penguji : Umairatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005


(.....)


(.....)


(.....)


(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia



Elok Kayunah Hayati, M.Si
NIP 19790620 200604 2 002

**LEMBAR PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ahmad Baidowi

NIM : 12630092

Jurusan : Kimia

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Awal
Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak
Kasar Metanol dan *n*-Heksana Teripang *Holothuria*
atra Pantai Wedi Ireng Banyuwangi

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila di kemudian hari ditemukan unsur-unsur plagiatisme, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 23 Nopember 2017



Ahmad Baidowi
NIM. 12630092

KATA PENGANTAR

Segala puji dan puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang kepada seluruh hamba-Nya, yang mana hanya dengan rahmat, taufik, hidayah dan inayah-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan judul *“Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Metanol dan n-Heksana Teripang *Holothuria atra* Pantai Wedi Ireng Banyuwangi”* ini dengan semaksimal mungkin, meskipun masih jauh dari kesempurnaan karena banyaknya kekurangan.

Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi junjungan, Nabi Muhammad SAW yang karena ajaran Beliau kita dapat menuju jalan yang lurus, jalan yang diridhoi. Semoga Allah melimpahkan kepada Beliau, rahmat yang sesuai dengan keutamaan sebagai pahala atas amal perbuatan Beliau, serta kepada semua keluarga, sahabat, para pengikut dan juga pencintanya yang senantiasa meneruskan perjuangan sampai saat ini hingga akhir zaman.

Penyusunan penelitian ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk memenuhi kewajiban jenjang S1 dalam tugas akhir berupa skripsi. Semoga kedepannya dapat terlaksana dengan sebaik-baiknya serta dapat memberikan hasil yang maksimal sehingga dapat memberikan manfaat kepada para pembaca. Penulis menyadari keterbatasan pengetahuan yang penulis miliki, karena itu tanpa keterlibatan dan saran dari berbagai pihak, sulit bagi penulis untuk menyelesaikan proposal penelitian ini. Oleh karena itu, dengan segenap kerendahan hati patutlah penulis ucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu, bapak serta saudara-saudara tercinta. Terimakasih atas segala doa dan cinta kasih yang tiada henti diberikan kepada penulis serta senantiasa memberikan motivasi yang luar biasa sehingga mampu memberikan pencerahan dan penguatan kepada penulis.
2. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si, Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc, dan Ibu Umayyatus Syarifah, M.A selaku dosen pembimbing penelitian yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan dan memberi masukan dalam menyelesaikan penelitian ini.
4. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
5. Teman-teman Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberi motivasi, informasi dan masukannya kepada penulis terutama rekan-rekan satu penelitian yang telah memberikan motivasi dan canda tawa dalam penyusunan penelitian ini.
6. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penulis.

Dengan menyadari atas terbatasnya ilmu yang penulis miliki, hasil penelitian ini tentu jauh dari kata sempurna. Untuk itu penulis dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan laporan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga laporan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Amiin.

Malang, 23 Nopember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Umum Teripang <i>Holothuria atra</i>	7
2.2 Potensi Metabolit Sekunder Teripang.....	9
2.3 Ekstraksi Metabolit Sekunder Teripang	10
2.4 Uji Fitokimia.....	11
2.4.1 Alkaloid	11
2.4.2 Flavonoid	13
2.4.3 Triterpenoid/Steroid.....	14
2.4.4 Saponin	16
2.5 Potensi Teripang Sebagai Antioksidan	17
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH.....	18
BAB III METODE PENELITIAN	21
3.1 Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.2 Alat dan Bahan.....	21
3.2.1 Alat	21
3.2.2 Bahan	21
3.3 Rancangan Penelitian.....	21
3.4 Tahapan Penelitian.....	22
3.5 Cara Kerja.....	23
3.5.1 Preparasi Sampel	23
3.5.2 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi	23
3.5.3 Identifikasi Metabolit Sekunder dengan Reagen.....	24
3.5.3.1 Uji Falvonoid.....	24
3.5.3.2 Uji Triterpenoid/Steroid	24
3.5.3.3 Uji Alkaloid	24

3.5.3.4 Uji Saponin	25
3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teripang Menggunakan Metode DPPH.....	25
3.5.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal	25
3.5.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Preparasi Sampel.....	27
4.2 Ekstraksi Maserasi	28
4.3 Uji Kandungan Metabolit Sekunder dengan Reagen.....	30
4.3.1 Alkaloid	34
4.3.2 Triterpenoid	35
4.3.3 Saponin	36
4.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>H.atra</i> Menggunakan Metode DPPH.....	38
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang DPPH.....	38
4.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan	39
4.5 Pemanfaatan Teripang Ditinjau Dari Perspektif Islam	42
BAB V PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

2.1 Struktur Flavonoid	13
2.2 Dugaan Reaksi Antara Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl Pekat.....	14
2.3 Struktur 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH)	18
2.4 Mekanisme DPPH Akseptor	20
4.1 Hasil Analisa Kualitatif Senyawa Yang Terkandung dalam Ekstrak Metanol Teripang <i>H. atra</i>	32
4.2 Hasil Analisa Kualitatif Senyawa Yang Terkandung dalam Ekstrak <i>n</i> -Heksana Teripang <i>H. atra</i>	32
4.3 Dugaan Reaksi Uji Mayer	34
4.4 Dugaan Reaksi Uji Dragendorff.....	35
4.5 Dugaan Interaksi Antara Saponin dengan Air	37
4.6 Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	38
4.7 Reaksi Penangkapan Radikal DPPH Oleh BHT	40
4.8 Delokasi Elektron Radikal DPPH	40



DAFTAR TABEL

4.1 Hasil Maserasi Sampel Teripang Hitam <i>H. atra</i>	29
4.2 Hasil Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Teripang <i>H. atra</i>	31
4.3 Tabel Hasil Analisis Kualitatif Ekstrak Metanol Teripang <i>H. atra</i>	32
4.4 Tabel Hasil Analisis Kualitatif Ekstrak n-Heksana Teripang <i>H. atra</i>	32
4.5 Nilai EC ₅₀ Masing-Masing Sampel.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

L.1 Diagram Alir Penelitian.....	53
L.2 Skema Kerja.....	54
2.1 Preparasi Sampel.....	54
2.2 Ekstraksi dengan Metode Maserasi.....	54
2.3 Uji Fitokimia.....	55
2.3.1 Uji Flavonoid.....	55
2.3.2 Uji Triterpenoid/Steroid.....	55
2.3.3 Uji Alkaloid.....	55
2.3.4 Uji Saponin.....	56
2.4 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH.....	56
2.4.1 Penentuan Panjang Gelombang DPPH.....	56
2.4.2 Pengukuran Potensi Antioksidan Pada Sampel.....	56
2.4.2.1 Absorbansi Kontrol.....	56
2.4.2.1 Absorbansi Sampel dengan Variasi Konsentrasi Sampel.....	57
L.3 Perhitungan.....	58
3.1 Perhitungan dan Pembuatan Reagen Serta Larutan.....	58
L.4 Hasil Perhitungan Randemen.....	62
4.1 Ekstrak Metanol Teripang <i>H. atra</i>	62
4.2 Ekstrak n-Heksana Teripang <i>H. atra</i>	62
L.5 Data Hasil Uji Antioksidan.....	63
5.1 Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	63
5.2 Hasil Pembacaan Spektrofotometer UV-Vis.....	64
5.3 Data Hasil Perhitungan Nilai EC ₅₀ Ekstrak Teripang <i>H. atra</i>	71
L.6 Dokumentasi Hasil Penelitian.....	75
6.1 Maserasi Menggunakan Pelarut.....	75
6.2 Uji Fitokimia.....	75
6.3 Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan.....	76

ABSTRAK

Baidowi, A. 2017. **Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Metanol dan *n*-Heksana Teripang *Holothuria atra* Pantai Wedi Ireng Banyuwangi**. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si ; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M. Sc

Kata Kunci : Teripang Hitam (*Holothuria atra*), Uji Antioksidan, Uji Fitokimia, DPPH

Teripang hitam (*Holothuria atra*) merupakan salah satu biota laut yang banyak ditemukan di perairan Indonesia. Selain sebagai sumber makanan bagi manusia, teripang juga mempunyai potensi sebagai sumber obat-obatan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kapasitas antioksidan masing-masing ekstrak teripang hitam (*H. atra*) dari pantai Wedi Ireng terhadap senyawa radikal DPPH dan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekundernya.

Penelitian ini dilakukan dengan mengekstraksi sampel menggunakan pelarut metanol dan *n*-heksana. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji fitokimia dengan reagen dan uji aktivitas antioksidan terhadap senyawa radikal DPPH. Tingkat aktivitas antioksidan diketahui dengan menghitung % aktivitas antioksidan menggunakan data absorbansi yang diperoleh pada masing-masing ekstrak. Hasil aktivitas antioksidan yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung nilai EC_{50} menggunakan aplikasi *Prisma Graph*.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak teripang hitam (*H. atra*) mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat lemah, ditunjukkan dengan nilai EC_{50} lebih dari 1000 ppm. Ekstrak metanol mempunyai nilai EC_{50} sebesar 4652 ppm, sedangkan nilai EC_{50} ekstrak *n*-heksana sebesar 3794 ppm. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi pada ekstrak metanol yaitu alkaloid, triterpenoid, dan saponin, sedangkan ekstrak *n*-heksana mengandung golongan senyawa alkaloid dan triterpenoid.

ABSTRACT

Baidowi, A. 2017. **Antioxidant Activity Test and Initial Identification Compounds of Secondary Metabolite Compounds Crude Extract Methanol and n-Hexane Sea Cucumber *Holothuria atra* Wedi Ireng Beach Banyuwangi.** Thesis. Department of Chemistry Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervisor II: Ahmad Hanapi, M. Sc.

Kata Kunci : Black Sea Cucumber (*Holothuria atra*), Antioxidant Test, Phytochemical Test, DPPH

Black sea cucumber (*Holothuria atra*) is one of the marine biota that is found in the waters of Indonesia. Besides as a source of food for humans, sea cucumbers also have the potential as a source of natural medicines. This study aims to determine the antioxidant capacity of each black sea cucumber extract (*H. atra*) from Wedi Ireng beach to DPPH radical compounds and to determine the content of secondary metabolite compounds.

This research was conducted by extracting the sample using methanol and n-hexane solvent. The concentrated concentrated extract was used for phytochemical test with reagent and antioxidant activity test against DPPH radical compound. Levels of antioxidant activity are known by calculating the% of antioxidant activity using absorbance data obtained in each extract. The resulting antioxidant activity was then used to calculate the EC₅₀ value using the Prism Graph application.

The results of this study showed that each black sea cucumber extract (*H. atra*) had very weak antioxidant activity, indicated by EC₅₀ value of more than 1000 ppm. The extract of methanol has an EC₅₀ value of 4652 ppm, while the EC₅₀ value of n-hexane extract is 3794 ppm. Secondary metabolite compounds identified in the methanol extract are alkaloids, triterpenoids, and saponins, whereas n-hexane extract contains classes of alkaloids and triterpenoids.

مستخلص البحث

بيضاوي، أ. ٢٠١٧. مضادات الأكسدة اختبار النشاط والتعرف المبكر للمجموعات مجمع الأيضية الثانوية الكركدن استخراج الميتانول و ن- الهكسان خيار البحر هولوثوريا أترا و يدي شاطئ شاطئ بانويانجي. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية علوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. تحت الإشراف: رحمة ن الماجستير و أحمد حانفي الماجستير.

الكلمة الرئيسية: خيار البحر الأسود (*Holothuria atra*)، اختبار مضادات الأكسدة، اختبار فيتوشيميكال، DPPH

خيار البحر الأسود *Holothuria atra* هو واحد من العديد من الحياة البحرية الموجودة في مياه إندونيسيا. بصرف النظر عن كونها مصدر الغذاء للبشر. يكون خيار البحر أيضا المحتمل كمصدر للأدوية الطبيعية. وكان الغرض من هذه الدراسة للأكسدة إلى تحديد القدرة المضادة من كل مستخلص الخيار البحر الأسود (*H. atra*) من الشاطئ Wedi Ireng ضد DPPH مجمع جذري وتحديد محتوى المركبات النشطة الموجودة في مقتطفات من خيار البحر الأسود (*H. atra*) من الشواطئ Wedi Ireng التي لديها إمكانات النشاط الحيوي المثلّي.

وقد أجريت هذه الدراسة عن طريق استخراج العينات مع الميتانول ون الهكسان. يُستخدم مستخلص تتركز التي تم الحصول عليها لاختبار الكواشف الاختبار الكيميائي النباتي مع النشاط المضاد للأكسدة ضد المركبات جذرية DPPH. يمكن تحديد مستوى النشاط المضاد للأكسدة عن طريق حساب. من النشاط المضاد للأكسدة باستخدام البيانات التي تم الحصول عليها في الامتصاصية من كل مستخلص. حصلت على نتائج النشاط المضاد للأكسدة وفُسرت في شكل قيم EC_{50} بریزم الرسم البياني.

وأظهرت نتائج هذه الدراسة أن كل مستخلص من خيار البحر الأسود (*H. atra*) كان له نشاط مضادات الأكسدة ضعيفة جدا. وأشار إلى قيمة EC_{50} أكثر من 1000 جزء في المليون. مستخلص الميتانول له قيمة EC_{50} من 4652 جزء في المليون. في حين أن قيمة EC_{50} من ن- الهكسان استخراج هو 3794 جزء في المليون. مركبات الأيض الثانوية التي تم تحديدها في مستخلص الميتانول هي فلويدات، تريبيرينويد، والصانويين، في حين أن مستخلص ن- هكسان يحتوي على فئات من فلويدات و تريبيرينويد.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teripang atau timun laut termasuk dalam filum *Echinodermata* merupakan salah satu biota laut yang banyak ditemukan di perairan Indonesia. Hal ini karena secara geografis perairan Indonesia terletak di antara Samudera Pasifik dan Samudera Hindia merupakan habitat terbaik untuk hewan teripang (Conand dan Byrne, 1993). Lautan sebagai habitat teripang merupakan sumber daya alam yang paling luas dan mempunyai berbagai manfaat bagi kehidupan manusia. Firman Allah dalam Qur'an surat an-Nahl (16) : 14:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حَبْلًا مَلْبَسًا وَتَرَى
الْفُلَّكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ۝ ۱۴

Artinya:

“Dan Dialah (Allah) yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur (Q.S. an-Nahl (16): 14).

Allah SWT memberikan kabar gembira kepada hamba-hambaNya dengan menyediakan lautan yang menghempas ombak dengan gelombangnya. Hal ini tertulis dalam firmanNya: (سَخَّرَ الْبَحْرَ). Tujuan dari ditundukkannya lautan ini yaitu agar kita sebagai manusia dapat mengambil keuntungan dari lautan seperti dalam

firmanNya: (وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ) “*dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya dan supaya kamu bersyukur*” (Abdullah, 2003).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa lautan mempunyai beberapa manfaat yang dapat dimanfaatkan oleh manusia, salah satunya sebagai sumber makanan. Di dasar lautan terdapat berbagai macam biota laut yang sangat banyak dimulai dari yang berukuran kecil sampai yang berukuran sangat besar. Biota-biota laut ini selain dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan, juga mempunyai potensi sebagai salah satu sumber obat. Salah satu biota laut yang mempunyai potensi sebagai sumber obat-obatan yaitu teripang.

Teripang umumnya menempati ekosistem terumbu karang dengan perairan yang jernih, bebas dari polusi, air relatif tenang dengan mutu air cukup baik (Wibowo, dkk., 1997). Pantai Wedi Ireng merupakan salah satu pantai di daerah Banyuwangi dengan karakteristik yang cocok dengan habitat teripang dan belum banyak tersentuh oleh manusia. Salah satu teripang yang hidup di perairan tersebut adalah teripang hitam (*Holothuria atra*). Penelitian ilmiah mengenai teripang dari pantai Wedi Ireng Banyuwangi belum dilakukan secara meluas sehingga perlu dilakukan pengujian awal terutama tentang kandungan senyawa kimia dan potensi bioaktivitasnya terutama antioksidan agar masyarakat setempat mengerti tentang manfaat dari teripang yang ada di daerahnya tersebut.

Antioksidan merupakan salah satu substansi yang sangat diperlukan oleh tubuh manusia. Hal ini dikarenakan antioksidan mempunyai kemampuan untuk menangkap radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh (Andayani, dkk., 2008). Selain berasal dari hasil sintesis, antioksidan juga dapat diperoleh dari bahan-bahan alam. Salah satu bahan alam yang mempunyai potensi sebagai antioksidan adalah

teripang. Wafa (2012) melaporkan bahwa teripang pasir *Holothuria scabra* yang berasal dari Pantai Kenjeran Surabaya mempunyai kemampuan menghambat radikal bebas sebesar 79,82% (ekstrak metanol) dan 94,82% (ekstrak *n*-heksana). Sedangkan Ernawati (2013) menyatakan teripang pasir *H.scabra* asal Pantai pesisir Pamekasan mempunyai daya hambat radikal bebas sebesar 81,08% (ekstrak metanol) dan 69,13% (ekstrak etil asetat).

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat diuji menggunakan beberapa metode, salah satunya dengan 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). Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode DPPH adalah *Effective Concentration* (EC₅₀). Semakin rendah nilai EC₅₀ menunjukkan semakin besarnya aktivitas penangkap radikal bebas (Rohman, dkk., 2005). Nobsathian, dkk. (2014) melaporkan nilai EC₅₀ ekstrak metanol teripang *H.atra* yang berasal dari perairan Provinsi Prachuap Khiri Khan Thailand sebesar 43.76 µg/ml.

Potensi atau bioaktivitas suatu bahan alam sangat dipengaruhi oleh kandungan senyawa kimia terutama metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Oktaviani, dkk. (2015) melaporkan bahwa senyawa fenolik dan alkaloid merupakan metabolit sekunder yang berperan penting terhadap potensi teripang *H.atra* sebagai antioksidan. Bordbar, dkk. (2011) menyatakan senyawa fenolik sangat berpengaruh terhadap tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dari teripang. Hubungan antara senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan seperti yang telah dilakukan oleh

Andarwulan (2010) menunjukkan bahwa secara keseluruhan nilai total fenol mempunyai pengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian senyawa bioaktif dari bahan alam (Harborne, 2006). Sedangkan untuk mendapatkan senyawa aktif tersebut dipengaruhi oleh metode pemisahan yang meliputi cara ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Sari, dkk. (2014) dengan menggunakan pelarut metanol, etil asetat, dan *n*-heksana melaporkan adanya beberapa kandungan metabolit sekunder dalam teripang hitam *H.edulis*. Senyawa-senyawa tersebut antara lain triterpenoid, steroid, flavonoid, dan saponin (dalam ekstrak metanol), alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, dan saponin (dalam ekstrak etil asetat), serta flavonoid (dalam ekstrak *n*-heksana).

Wafa (2012), menemukan indikasi adanya senyawa triterpenoid dalam ekstrak metanol teripang *H.scabra*. Senyawa tersebut dipisahkan dari pelarutnya dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil positif terpisahnya triterpenoid dari pelarutnya ditunjukkan dengan adanya spot-spot pada plat KLT yang identik dengan ciri-ciri suatu senyawa triterpenoid. Senyawa triterpenoid pada hewan dapat berperan sebagai salah satu antioksidan alami karena dapat menetralkan radikal bebas (Ernawati, 2013).

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan, maka penelitian awal tentang teripang *H.atra* asal pantai Wedi Ireng Banyuwangi perlu untuk dilakukan. Penelitian ini akan lebih fokus pada identifikasi golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam teripang tersebut dan potensinya sebagai antioksidan. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol (polar) dan *n*-heksana (non polar).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak teripang *H. atra*?
2. Berapa nilai kapasitas antioksidan (EC₅₀) dari ekstrak teripang *H. atra*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengidentifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak teripang *H. atra*.
2. Untuk mengetahui nilai kapasitas antioksidan (EC₅₀) teripang *H. atra*.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang *Holothuria atra* yang berasal dari pantai Wedi Ireng Banyuwangi.
2. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan *n*-heksana.
3. Kemampuan antioksidan teripang *H. atra* diidentifikasi menggunakan metode DPPH dengan pembandingan BHT dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
4. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak teripang *H. atra* diuji dengan metode uji fitokimia menggunakan beberapa reagen.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat dari teripang bagi kesehatan sehingga masyarakat akan lebih menjaga dan melestarikan habitat teripang serta memanfaatkan sebagai salah satu opsi konsumsi untuk menjaga kesehatan tubuh.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Teripang *Holothuria atra*

Potensi teripang secara umum dari perikanan tangkap di Indonesia cukup besar, yaitu 3.517 ton pada tahun 2001 (DKP, 2003 dalam Kustiariyah, 2007). Pada tahun 1994, Indonesia mengekspor teripang ke Malaysia senilai 732.612 RM. Pada waktu yang sama, Indonesia juga mengekspor teripang ke negara China yang dapat memenuhi 37 % kebutuhan masyarakat terhadap teripang (Baine, dkk., 1997 dalam Kustiariyah, 2007). Salah satu jenis teripang yang hidup di Indonesia adalah teripang *Holothuria atra*.

Holothuria atra merupakan salah satu jenis teripang yang termasuk ke dalam famili *Holothuriidae*. Famili ini merupakan famili yang banyak tersebar pada daerah literatorial perairan Indonesia. *Holothuria atra* merupakan salah satu jenis teripang yang penyebarannya luas di kawasan Indo-Pasifik barat (Bandaranayake, dkk., 1999 ; Darsono, 1999).

Klasifikasi *Holothuria atra* menurut Arnold, dkk. (1989) adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: Animalia
<i>Phylum</i>	: Echinodermata
<i>Class</i>	: Holothuridea
<i>Order</i>	: Aspidochirotida
<i>Family</i>	: Holothuriidae
<i>Genus</i>	: <i>Holothuria</i>
<i>Species</i>	: <i>Holothuria atra</i>

Teripang merupakan salah satu sumber makanan halal yang berasal dari lautan dan mempunyai banyak manfaat bagi manusia. Hal ini menunjukkan bahwa

lautan mempunyai potensi sebagai penyedia makanan yang halal dan mempunyai berbagai manfaat bagi kehidupan. Manfaat lautan sebagai penyedia sumber makanan yang halal tertulis dalam surat al-Maidah (5) : 96:

أُجِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَاعًا لَّكُمْ...

“Dihalalkan bagimu binatang buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagimu..” (Q.S al-Maidah (5) : 96)

Ibnu Abu Talhah telah meriwayatkan dari Ibnu Abbas dalam suatu riwayat, juga dari Sa'id Ibnul Musayyab serta Sa'id Ibnu Jubair dan lain-lainnya sehubungan dengan makna firman Allah: (أُجِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ) “dihalalkan bagi kalian binatang buruan laut”. Yang dimaksud disini yaitu hewan laut yang ditangkap dalam keadaan segar. Sedangkan yang dimaksud dalam firman Allah : (وَطَعَامُهُ...) “dan makanan (yang berasal) dari laut”, yaitu makanan yang bersumber dari laut untuk dijadikan bekal dalam keadaan diasin dan telah kering (Abdullah, 2003).

Ibnu Abbas dalam suatu riwayat mengatakan, yang dimaksud dengan صَيْدُهُ adalah hewan laut yang ditangkap dalam keadaan hidup-hidup. Sedangkan yang dimaksud dengan طَعَامُهُ yaitu hewan laut yang dicampakkan ke darat oleh laut dalam keadaan telah mati. Sufyan Ibnu Unayyah telah meriwayatkan dari Amr Ibnu Dinar, dari Ikrimah, dari Abu Bakar As-Siddiq yang mengatakan bahwa yang dimaksud dengan طَعَامُهُ yaitu semua yang ada di dalam laut. Hal ini diriwayatkan oleh Ibnu Jarir dan Ibnu Abu Hatim (Abdullah, 2003).

2.2 Potensi Metabolit Sekunder Teripang

Teripang mempunyai kandungan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang potensial. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh organisme sebagai proteksi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim atau dari ancaman predator. Metabolit sekunder biasanya dalam bentuk senyawa bioaktif antara lain senyawa terpenoid, senyawa fenolik, alkaloid dan lain-lain (Bhat, dkk., 2009; Nofiani, 2008). Metabolit sekunder sangat bervariasi jumlah dan jenisnya dari setiap organisme. Beberapa dari senyawa tersebut telah diisolasi sebagian diantaranya memberikan efek fisiologis dan farmakologis yang lebih dikenal sebagai senyawa kimia aktif (Copriady, dkk., 2005).

Makhluk hidup dapat menghasilkan metabolit sekunder melalui reaksi sekunder dari bahan organik primer (karbohidrat, lemak, protein). Metabolit sekunder ini umumnya merupakan hasil akhir dari suatu proses metabolisme. Metabolit sekunder ini berperan juga pada proses fisiologi. Metabolit sekunder dapat dibagi menjadi tiga kelompok besar yaitu : fenolik, alkaloid dan terpenoid, tetapi pigmen dan porfirin juga termasuk di dalamnya (Purwanti 2009).

Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam teripang *H. atra* antara lain alkaloid, triterpenoid, dan saponin (Oktaviani, dkk., 2015). Selain beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut, Sari, dkk. (2014) juga menemukan adanya golongan senyawa flavonoid dan steroid dalam teripang *H. edulis*. Senyawa aktif golongan steroid dan saponin juga terdeteksi dalam teripang *Stichopus hermani* (Rasyid, 2012).

2.3 Ekstraksi Metabolit Sekunder Teripang

Salah satu metode yang sering digunakan untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder dari suatu bahan alam adalah maserasi. Maserasi merupakan metode yang digunakan untuk ekstraksi padat-cair secara bertahap yang dilakukan dengan cara merendam padatan dalam suatu pelarut. Proses perendaman untuk mengekstraksi suatu substansi dari bahan alam ini bisa dilakukan tanpa pemanasan (pada suhu kamar), dengan pemanasan atau bahkan pada suhu tinggi (Alfianda, 2008).

Faktor-faktor yang mempengaruhi terhadap proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu dan jenis pelarut yang digunakan (Khopkar, 2003). Pelarut yang digunakan tergantung dari sifat komponen yang akan diisolasi. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan polaritas pelarut agar bahan dapat larut. Ada tiga jenis pelarut, yaitu pelarut polar, semi-polar dan non polar (Houghton, dkk., 1998 dalam Meydia, 2006). Prinsip pemilihan pelarut adalah *like dissolve like*, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar (Achmadi, 1992 dalam Nugraheny, 2001).

Pemilihan pelarut juga didasarkan pada titik didihnya. Pelarut bertitik didih rendah akan hilang karena penguapan, sedangkan pada pelarut bertitik didih tinggi baru dapat dipisahkan pada suhu tinggi (Meydia, 2008). Bahan dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama kepolarannya. Semakin besar konstanta dielektrik, maka semakin polar pelarut tersebut (Pelczar, dkk., 1988).

Pada penelitian Ernawati (2013), ekstraksi senyawa aktif pada teripang *Holothuria Scabra* dilakukan menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan

komposisi sampel dan pelarut yaitu 1 : 2 menghasilkan randemen sebesar 3,356 %. Sedangkan Inayah (2012) melakukan ekstraksi menggunakan pelarut *n*-heksana dengan perbandingan sampel dan pelarut yaitu 1 : 5 menghasilkan randemen sebesar 1,86 %. Sari, dkk. (2014), melakukan ekstraksi pada 100 gram teripang *Holothuria edulis* menggunakan pelarut metanol dan *n*-heksana masing-masing 300 ml menghasilkan randemen sebesar 7,181 % ekstrak metanol dan 0,717 % ekstrak *n*-heksana.

2.4 Uji Fitokimia

Fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder pada suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencangkup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Harborne, 1987). Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* (Harborne, 1987).

2.4.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu

atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson, 1995). Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) dan pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid.

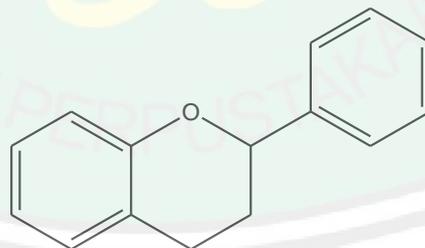
Reaksi pengendapan yang terjadi saat pengujian alkaloid dikarenakan adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion-iod dalam pereaksi Dragendorff dan pereaksi Mayer. Hal ini mengakibatkan terbentuknya endapan jingga pada penambahan pereaksi Dragendorff karena nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam dan terbentuk endapan putih kekuningan pada penambahan pereaksi Mayer karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana, dkk., 2005; Sangi, dkk., 2008).

Oktaviani, dkk. (2015) menemukan adanya senyawa golongan alkaloid pada ekstrak metanol jeroan teripang *H. atra*. Sedangkan pada penelitian Inayah (2012) terhadap teripang *H. scabra*, hasil positif terdeteksi pada uji Mayer dan uji Dragendorff yang mengindikasikan adanya kalium alkaloid dalam sampel tersebut.

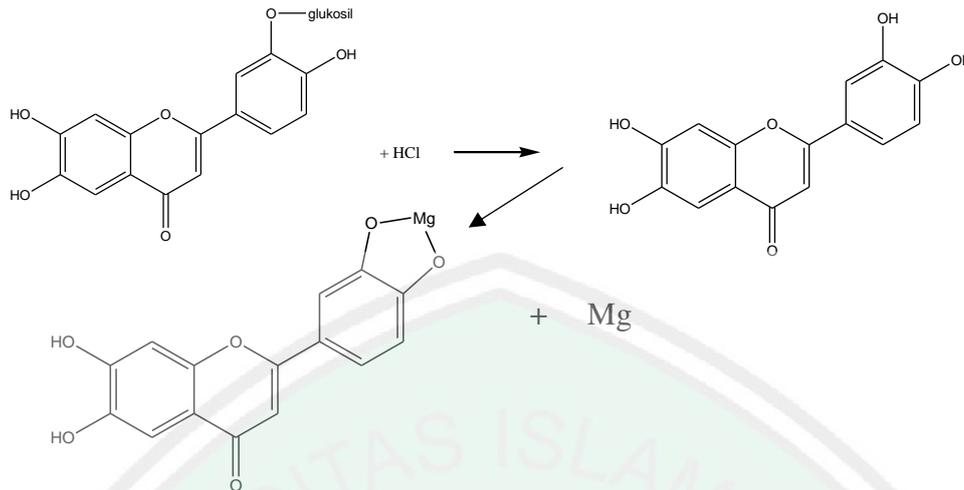
Pranoto (2012) juga menemukan adanya golongan alkaloid pada ekstrak metanol teripang *H. scabra* asal pantai utara Jawa.

2.4.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C₃, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995). Flavonoid akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga ketika direduksi dengan logam Mg dan HCl pekat. Adapun struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur flavonoid (Markham, 1988 dalam Wafa, 2012)



Gambar 2.2 Reaksi dugaan antara flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2004 dalam Wafa, 2012).

Sari, dkk. (2014) dalam penelitiannya menemukan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak metanol, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-heksana teripang *H.edulis*. Flavonoid juga teridentifikasi keberadaannya pada ekstrak metanol teripang *H.leucospilota*. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang sangat efektif digunakan sebagai antioksidan (Johnson, 2001).

2.4.3 Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987).

Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpenoid (Harborne, 1987). Senyawa steroid dapat diklasifikasikan menjadi steroid dengan atom karbon tidak lebih dari 21 (steroid sederhana) dan steroid dengan atom karbon lebih dari 21 seperti sterol, sapogenin, alkaloid steroid, glikosida jantung dan vitamin D (Hogiono, dkk., 1994). Menurut Hogiono, dkk. (1994) steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dua triterpen yaitu lanosterol dan sikloartenol. Pada umumnya, steroid tumbuhan berasal dari sikloartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai bahan dasar untuk pembuatan obat (Hogiono, dkk., 1994). Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mengidentifikasi adanya triterpenoid pada suatu sampel. Hasil positif triterpenoid ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi ungu (Wafa, 2012).

Wafa (2012) dalam penelitiannya menemukan adanya triterpenoid pada sampel ekstrak metanol teripang pasir *H.scabra*. Triterpenoid juga teridentifikasi keberadaannya dalam sampel ekstrak metanol teripang pada penelitian Ernawati (2013). Sari, dkk. (2014) juga menemukan adanya triterpenoid dalam ekstrak metanol dan etil asetat teripang hitam *H.edulis*.

Penelitian yang dilakukan oleh Inayah (2012) menemukan adanya steroid dengan intensitas lumayan kuat pada ekstrak *n*-heksana teripang pasir *H.scabra*. Steroid juga teridentifikasi keberadaannya pada ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat teripang *H.edulis* (Sari, dkk., 2014). Rasyid (2012) juga menemukan adanya senyawa steroid pada ekstrak metanol teripang *Stichopus hermani* yang berasal dari perairan Teluk Ratai Lampung Selatan.

2.4.4 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Glikon bersifat mudah larut dalam air dan glikosida-glikosida mempunyai tegangan permukaan yang kuat (Winarno, 1997). Selain itu saponin adalah senyawa aktif permukaan kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Robinson, 1995). Sifatnya sebagai senyawa aktif permukaan disebabkan adanya kombinasi antara aglikon lipofilik dengan gula yang bersifat hidrofilik (Houghton, dkk., 1998). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne, 1987). Pembentukan busa sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan indikasi adanya saponin. Saponin jauh lebih polar daripada saponin karena ikatan glikosidanya (Harborne, 1987).

Saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofobik. Pada saat digojok gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih. Kemudian dilakukan penambahan HCl 2 N yang bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil (Kumalasari, dkk., 2011).

Teripang merupakan salah satu hewan yang terindikasi mempunyai senyawa saponin. Wafa (2012) menemukan adanya saponin pada sampel ekstrak n-heksana teripang *H.scabra*. Hasil identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak jeroan teripang *H. atra* teridentifikasi adanya senyawa saponin dalam sampel

tersebut (oktaviani, dkk., 2015). Sedangkan pada penelitian Arifin (2013), saponin terdeteksi keberadaannya pada ekstrak metanol dan ekstrak *n*-heksana teripang *H.scabra* asal pantai Sidayu Gresik.

2.5 Potensi Teripang Sebagai Antioksidan

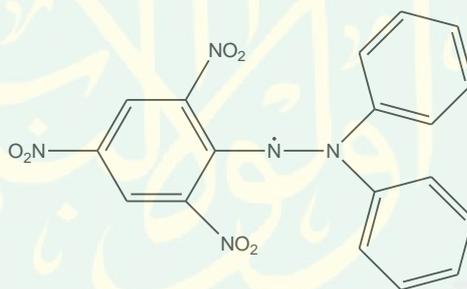
Teripang merupakan salah satu hewan tingkat rendah yang mempunyai kandungan senyawa-senyawa yang mampu berperan sebagai antioksidan. Senyawa fenolik dan flavonoid yang ditemukan pada jaringan otot teripang *Cucumaria frandosa* merupakan sumber antioksidan yang berguna untuk konsumsi manusia, sedangkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi pada teripang tersebut ditemukan pada saluran pencernaan, gonad, dan organ respirasi (Mamelona, dkk., 2007).

Sandrasari (2008), menyatakan bahwa suatu senyawa mempunyai kapasitas antioksidan yang kuat jika mampu menghambat perkembangan radikal bebas lebih dari 80%, sedang jika menghambat sebesar 50 - 80%, dan lemah jika mampu menghambat kurang dari 50%. Althunibat, dkk. (2009) melaporkan bahwa teripang pasir asal perairan Malaysia yang diekstrak menggunakan pelarut metanol:diklorometan (1:1) mampu menghambat radikal bebas sebesar 77,46 %. Sedangkan Soltani, dkk. (2014) melaporkan bahwa ekstrak diklorometan teripang *H.leucospilota* asal pantai Bandar Abbas Iran dengan konsentrasi 1 mg/ml mampu meredam radikal bebas sebesar 51,9 %.

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti, dkk., 2009).

Senyawa DPPH merupakan suatu senyawa radikal bebas yang banyak digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan suatu senyawa. Senyawa ini mempunyai struktur seperti pada Gambar 2.3 (Setiadi, 2008).



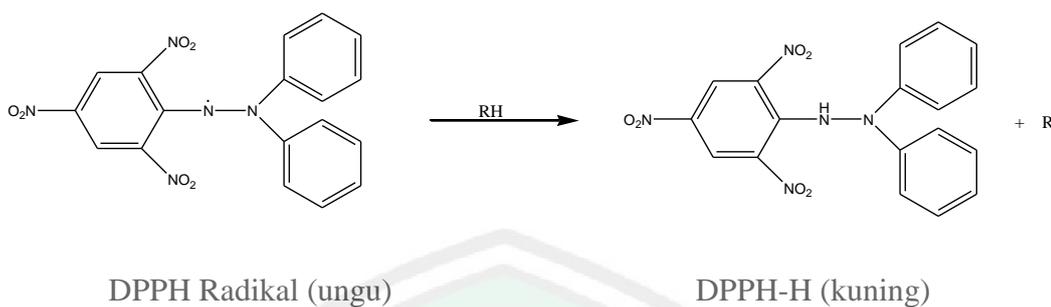
Gambar 2.3 Struktur 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri UV-Vis. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam pengukuran aktivitas antioksidan suatu senyawa salah satunya yaitu panjang gelombang maksimum DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk menentukan panjang gelombang dari DPPH yang akan digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel. Hal ini dikarenakan setiap DPPH yang digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan mempunyai panjang

gelombang maksimum yang berbeda-beda. Jika pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang tidak sesuai dengan panjang gelombang maksimum DPPH yang digunakan tersebut, maka hal tersebut akan mempengaruhi hasil pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel. Ernawati (2013), pada penelitiannya menyatakan bahwa larutan DPPH 0,2 mM mempunyai panjang gelombang maksimum 515 nm.

Selain penentuan panjang gelombang maksimum, hal yang perlu diperhatikan dalam analisis aktivitas antioksidan adalah waktu kestabilan. Penentuan waktu kestabilan dilakukan untuk mengetahui waktu stabilnya reaksi antara sampel dengan DPPH yang ditunjukkan dengan tidak terjadinya penurunan absorbansi sampel. Ernawati (2013), menyatakan bahwa waktu kestabilan ekstrak metanol teripang *H.scabra* adalah dimulai pada menit ke 20 dengan nilai absorbansi stabil di angka 0,50.

Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tidak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang stabil (Yuhernita, dkk., 2011). Warna akan berubah menjadi kuning saat elektron berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen (Prakash, 2007). Reaksi yang terjadi antara DPPH dengan antioksidan ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Mekanisme DPPH akseptor (Yuhernita, dkk., 2011)

Suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi, yang ditandai dengan semakin berkurangnya intensitas warna ungu menjadi kuning pucat. Peredaman warna DPPH terjadi karena adanya senyawa yang dapat memberikan radikal atom hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H). Parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan DPPH adalah EC_{50} (*Effective Concentration*). EC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai EC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman, dkk., 2005).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2017 sampai bulan Juli 2017 di laboratorium Kimia, Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *frezze dryer*, neraca analitik, gelas arloji, penyaring *buchner*, *shaker*, *rotary evaporator*, desikator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *vortex*, pipet ukur, pipet volume, pipet tetes, *beaker glass*, blender, mortar dan alu, labu ukur, dan lemari asap.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain teripang pasir yang didapatkan dari petani teripang pantai Wedi Ireng Banyuwangi, metanol, n-heksana, HCl pekat, HCl 1 N, logam Mg, reagen Dragendroff, reagen Meyer, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, DPPH, dan BHT.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Langkah pertama yang dilakukan yaitu pengeringan sampel teripang dengan

bantuan instrumentasi *freeze dryer*. Selanjutnya sampel teripang dihaluskan untuk memperluas permukaannya. Sampel yang sudah halus kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan *n*-heksana selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing pelarut selanjutnya dipekatkan menggunakan *vacum rotary eevaporator* sehingga akan diperoleh ekstrak pekat untuk kemudian dihitung randemennya. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian diuji fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak teripang tersebut. Identifikasi ini meliputi uji flavonoid, uji steroid, uji triterpenoid, dan uji saponin. Masing-masing ekstrak kemudian diuji aktivitas antioksidannya menggunakan larutan DPPH. Tingkat aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan menghitung % aktivitas antioksidan menggunakan data absorbansi yang diperoleh pada masing-masing ekstrak kasar dan pembanding BHT. Hasil aktivitas antioksidan yang diperoleh kemudian diinterpretasikan dalam bentuk nilai EC₅₀ menggunakan aplikasi *GraphPad Prism6*. Langkah yang terakhir yaitu analisis data dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dideskripsikan hasilnya.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi sampel
2. Ekstraksi sampel dengan metode maserasi
3. Identifikasi senyawa metabolit sekunder
4. Uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar teripang menggunakan metode DPPH

5. Analisis data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang *H. atra* yang didapatkan dari pantai Wedi Ireng Banyuwangi Jawa Timur. Sampel teripang terlebih dahulu dipotong kecil-kecil untuk mempermudah proses pengeringan. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan instrumentasi *frezze dryer* dengan suhu -72°C . Sampel yang sudah kering selanjutnya dihaluskan dengan tujuan untuk memperluas permukaannya sehingga interaksi antara sampel dengan pelarut semakin maksimal (Inayah, 2012).

3.5.2 Ekstraksi Sampel dengan Maserasi

Serbuk teripang pasir ditimbang sebanyak 50 gram dan dilarutkan dengan pelarut metanol sebanyak 500 ml selama 3x24 jam. Filtrat yang diperoleh selanjutnya disaring dan ampasnya dilarutkan lagi dengan metanol. Perlakuan ini dilakukan sampai warna filtrat berubah dari warna pekat menjadi tak berwarna (bening). Filtrat yang dihasilkan selanjutnya digabung menjadi satu. Ekstraksi maserasi juga dilakukan terhadap sampel teripang baru menggunakan pelarut *n*-heksana dengan perlakuan yang sama seperti di atas. Ekstrak yang didapatkan dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak pekat metanol dan *n*-heksana.

3.5.3 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Reagen

3.5.3.1 Uji Flavonoid

Ekstrak teripang dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam 1-2 ml metanol panas 50 %. Kemudian ditambah sedikit logam Mg dan 0,5 ml HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid (Inayah, 2012).

3.5.3.2 Uji Steroid atau Triterpenoid

Ekstrak teripang dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, ditambah dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat, kemudian ditambah dengan 1-2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Inayah, 2012).

3.5.3.3 Uji Alkaloid

Ekstrak teripang dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 ml HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 0,5 ml reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 0,5 ml reagen Meyer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid (Inayah, 2012).

3.5.3.4 Uji Saponin

Ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Wafa, 2012).

3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak kasar Teripang menggunakan Metode DPPH

3.5.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 4 ml didiamkan selama \pm 10 menit. Larutan kemudian dicari panjang gelombang maksimalnya dan dicatat data tersebut untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, dkk., 2010).

3.5.4.2 Pengukuran Kapasitas Antioksidan

Ekstrak pekat metanol dan *n*-heksana ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan menggunakan pelarut etanol sampai volume 50 ml. Larutan ekstrak metanol yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2,5; dan 3,5 ml. Kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan ditambahkan pelarut etanol sampai volume larutan menjadi 10 ml. Sehingga konsentrasi dari larutan tersebut masing-masing 25, 50, 100, 150, 250, dan 350 ppm. Sedangkan untuk ekstrak *n*-heksana, larutan ekstrak dipipet masing-masing 1; 1,5; 1,5; 2; 2,5; 4; dan 5 ml kemudian ditambahkan etanol sampai volume 10 ml. Sehingga konsentrasi larutan ekstra tersebut masing-masing 100, 150, 200, 250, 400, dan 500 ppm. Selanjutnya diambil 3 ml larutan dari masing-masing konsentrasi dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 ml. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C

selama beberapa menit sesuai waktu kestabilan yang telah ditentukan (30 menit untuk ekstrak metanol dan 80 menit untuk ekstrak *n*-heksana) untuk selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan satuan % aktivitas antioksidan dan dihitung menggunakan persamaan :

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{a-b}{a} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3.1)$$

dengan *a* adalah absorbansi DPPH kontrol, dan *b* adalah absorbansi DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan ekstrak *H.atra*.

Hasil yang diperoleh dari persamaan 3.1 selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai EC₅₀ nya dengan menggunakan aplikasi *GraphPad Prism6*. Kontrol dibuat dengan cara yang sama tanpa menggunakan sampel ekstrak kasar teripang. Sedangkan untuk pembandingan dibuat dengan cara yang sama akan tetapi sampel ekstrak teripang diganti dengan BHT pada konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang hitam segar *H. atra* yang diperoleh dari pantai Wedi Ireng Banyuwangi. Teripang hitam ini mempunyai ciri-ciri berbentuk panjang seperti mentimun, berwarna hitam kemerah-merahan dan berbau amis. Sampel teripang hitam *H. atra* terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran-kotoran seperti pasir yang terdapat dalam tubuhnya agar tidak mengganggu proses ekstraksi metabolit sekunder. Teripang hitam *H. atra* yang sudah bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan menggunakan metode pengeringan beku (*freeze drying*).

Pengeringan sampel dengan metode *freeze drying* dipilih karena mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode pengeringan biasa, antara lain waktu pengeringan relatif lebih cepat, tidak mengubah komposisi bahan baik secara fisik maupun kimia, serta meminimalisir kontak antara bahan dan lingkungannya sehingga mutu bahan lebih terjamin (Hariyadi, 2013). Selain itu, pengeringan dengan metode ini tidak menggunakan panas yang tinggi sehingga metabolit sekunder yang rentan terhadap panas tidak rusak. Prinsip kerja metode ini dimulai dengan proses pembekuan dan dilanjutkan dengan pengeringan, yaitu mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagian besar air yang terkandung dalam suatu bahan melalui mekanisme sublimasi. Proses pembekuan dilakukan dengan menggunakan *freezer* pada suhu $(-72^{\circ}\text{C}) - (-75^{\circ}\text{C})$ sampai air yang terkandung dalam sampel teripang beku secara sempurna.

Teripang hitam yang sudah kering kemudian dihaluskan untuk memperluas permukaannya. Penghalusan sampel ini dilakukan karena ukuran sampel yang semakin halus membuat interaksi antara zat cair atau pelarut ekstraksi terhadap sampel akan semakin besar dan proses ekstraksi akan semakin efektif sehingga didapatkan randemen ekstrak yang semakin banyak. Hasil dari preparasi teripang hitam ini adalah 200 gram serbuk teripang hitam yang berwarna hitam kecoklatan.

4.2 Ekstraksi Maserasi

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi ini dilakukan agar metabolit sekunder dalam teripang *H.atra* dapat terekstrak ke dalam pelarut yang mempunyai sifat kepolaran yang sama dengan metabolit sekunder tersebut. Metode ini merupakan metode yang sering dipilih untuk proses ekstraksi yang masih bersifat pendahuluan atau target senyawa yang belum jelas. Sedangkan metode lain seperti perkolasi dan Soxhlet digunakan untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang targetnya sudah jelas (Saifudin, 2002). Selain itu, proses ekstraksi dengan metode maserasi juga tidak memerlukan suhu tinggi sehingga metabolit sekunder dalam teripang *H.atra* yang rentan terhadap panas tidak akan rusak.

Ekstraksi metabolit sekunder teripang *H.atra* dilakukan dengan menggunakan metanol dan *n*-heksana sebagai pelarut. Pelarut metanol merupakan pelarut yang sering digunakan untuk mengekstrak metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya dan untuk tujuan skrining awal. Metanol merupakan pelarut yang mempunyai sifat polar dengan nilai konstanta dielektrik (ϵ) sebesar 33. Selain itu, metanol juga mempunyai kemampuan menembus membran sel untuk mengekstrak senyawa intraseluler yang terdapat dalam suatu bahan (Tiwari, dkk.,

2011). Sedangkan *n*-heksana sebagai pelarut non polar mempunyai nilai konstanta dielektrik (ϵ) 1,89 sehingga sering digunakan untuk mengekstrak metabolit sekunder yang bersifat non polar.

Filtrat yang dihasilkan selanjutnya dievaporasi untuk mendapat ekstrak kasar yang sudah terpisah dari pelarutnya. Proses evaporasi dilakukan menggunakan *vacum rotary evaporator* karena pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi merupakan pelarut organik. Prinsip dari *vacum rotary evaporator* ini yaitu penurunan tekanan sehingga pelarut akan menguap terlebih dahulu sebelum mencapai titik didihnya. Pelarut yang menguap di bawah titik didihnya ini disebabkan adanya pompa *vacum* yang berfungsi untuk menurunkan tekanan. Penurunan tekanan menyebabkan titik didih pelarut menjadi turun sehingga pelarut akan lebih mudah menguap. Adapun Hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil maserasi sampel teripang hitam *H.atra*

Pelarut	Berat ekstrak Kasar (gram)	Randemen (%)	Warna Ekstrak pekat
Metanol	5,41	10,82	Coklat
<i>n</i> -Heksana	0,45	0,9	Coklat pekat

Berdasarkan Tabel 4.1, dapat diketahui bahwa ekstrak yang dihasilkan pada pelarut metanol mempunyai nilai randemen yang lebih besar daripada ekstrak pada pelarut *n*-heksana. Hal ini terjadi karena senyawa-senyawa metabolit sekunder berada dalam bentuk glikosidanya. Glikosida sendiri merupakan senyawa yang terbentuk dari gugus non-gula (aglikon) dan gugus gula (glikon). Senyawa-senyawa metabolit sekunder berperan sebagai aglikon yang berikatan dengan gugus gula sehingga cenderung bersifat polar karena gula banyak mengandung gugus -OH

(Fessenden, 1982). Harborne (1982) menyatakan bahwa pelarut metanol dapat melarutkan senyawa-senyawa polar yang banyak terkandung dalam bahan seperti senyawa fenolik dan gula sehingga ekstrak yang dihasilkan dari pelarut metanol lebih besar daripada pelarut *n*-heksana.

Ekstrak yang dihasilkan pada penelitian ini berbeda dengan penelitian Basir (2013) yang mendapatkan ekstrak teripang *H. atra* asal Kepulauan Seribu sebesar 29,20% pada pelarut metanol. Hal ini menunjukkan bahwa hasil ekstrak yang diperoleh sangat bergantung pada beberapa faktor. Darusman, dkk. (1995) menyatakan bahwa beberapa faktor seperti kondisi alamiah senyawa, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel sangat berpengaruh terhadap jumlah ekstrak yang akan dihasilkan.

4.3 Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Uji kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kasar teripang ini meliputi uji keberadaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, dan saponin. Hasil analisis senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak teripang *H. atra* dapat dilihat pada Tabel 4.2.

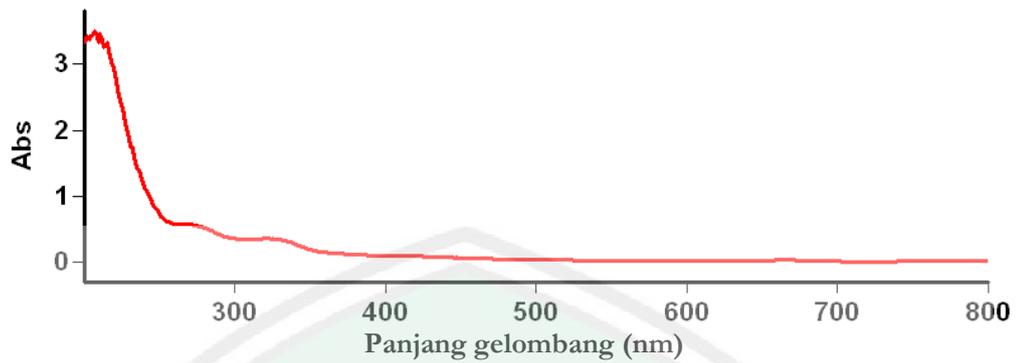
Tabel 4.2 Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak teripang *H. atra*

No	Golongan Senyawa	Ekstrak		Standar
		Metanol	<i>n</i> -Heksana	
1.	Flavonoid	-	-	Warna jingga
2.	Steroid	-	-	Warna hijau/biru
3.	Triterpenoid	+	+	Cincin coklat di perbatasan dua pelarut
4.	Alkaloid			
	a. Dragendorff	+	+	Endapan berwarna jingga
	b. Meyer	+	-	Endapan berwarna kuning
5.	Saponin	+	-	Terbentuknya busa

Keterangan : + : Terdeteksi
- : Tidak terdeteksi

Berdasarkan Tabel 4.2, dapat diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak metanol *H. atra* yaitu golongan triterpenoid, alkaloid, dan saponin. Sedangkan senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak *n*-heksana adalah triterpenoid dan alkaloid. Senyawa-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 (Ernawati, 2012).

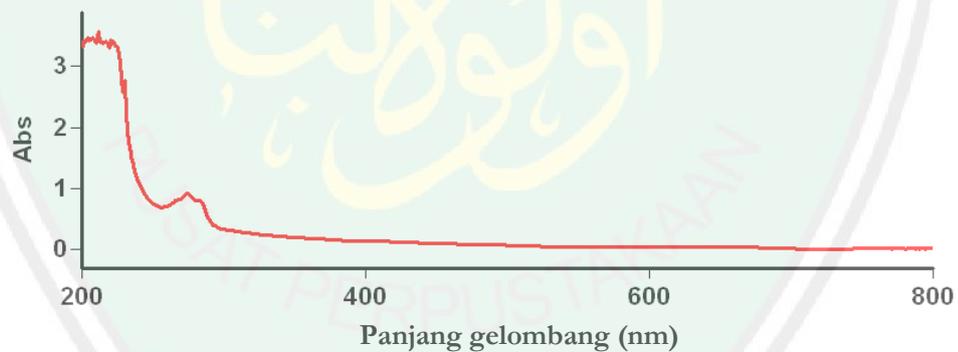
Selain uji reagen, keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak *H. atra* diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian ini dilakukan untuk memperkuat hasil yang diperoleh pada uji fitokimia. Hasil pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan 4.2.



Gambar 4.1 Hasil analisis kualitatif senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol teripang *H. atra*

Tabel 4.3 Tabel hasil analisis kualitatif ekstrak metanol teripang *H. atra*

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
322,0	0,356
275,0	0,650
210,0	3,469
201,9	3,422



Gambar 4.2 Hasil analisis kualitatif senyawa yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana teripang *H. atra*

Tabel 4.4 Tabel hasil analisis kualitatif ekstrak *n*-heksana teripang *H. atra*

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
285,0	0,790
275,0	0,924
216,9	3,411
201,9	3,475

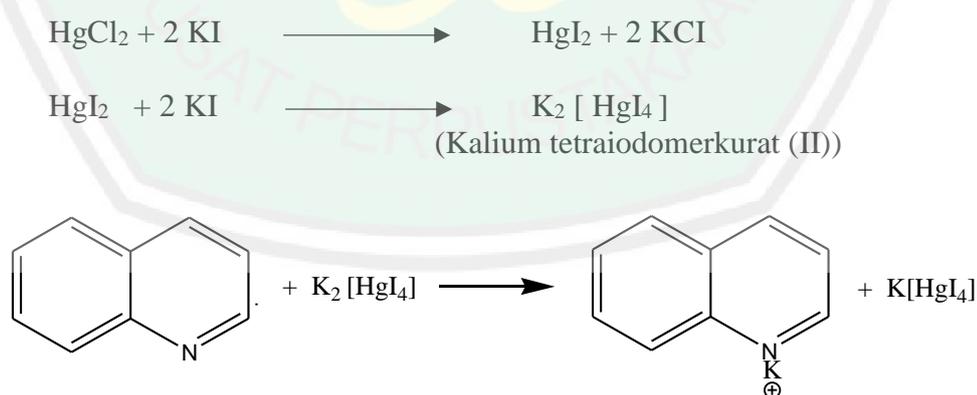
Berdasarkan Tabel 4.3 dan 4.4, dapat diketahui bahwa terdapat beberapa puncak serapan yang muncul pada ekstrak metanol dan *n*-heksana. Pada kedua ekstrak, terdapat puncak serapan yang mempunyai nilai sama yaitu pada panjang gelombang 201.9 dan 275 nm. Menurut Jayanti, dkk. (2012), puncak serapan pada panjang gelombang 202 nm merupakan serapan senyawa steroid/triterpenoid. Sedangkan menurut Prasetya (2007), puncak serapan tersebut merupakan serapan khas untuk senyawa triterpenoid yang mempunyai kromofor C=C yang tidak terkonjugasi. Sedangkan serapan pada panjang gelombang 275 nm kemungkinan akibat terjadinya transisi berturut-turut dari $n-\pi^*$, dan $n-\sigma^*$ (Santi, 2011).

Berdasarkan Tabel 4.3, terdapat puncak serapan pada panjang gelombang 210 nm. Puncak serapan pada panjang gelombang 210 nm merupakan kerangka dasar dari cincin furan yang dimiliki oleh alkaloid indol (Kong, dkk., 1985 dalam Pramita, dkk., 2013). Munculnya puncak 322 nm juga mengindikasikan adanya ikatan terkonjugasi dari heteroatom dengan sistem π aromatik ($-C=C-C=C-C=O$) (Wahjuni, 2008).

Berdasarkan Tabel 4.4, dapat diketahui bahwa terdapat beberapa puncak serapan yang teridentifikasi pada ekstrak *n*-heksana. Puncak serapan pada panjang gelombang 285 nm mengindikasikan adanya kromofor benzena (Pramita, dkk., 2014). Sedangkan pada panjang gelombang 216,9 nm diduga merupakan serapan senyawa auksokrom yang tidak terkonjugasi yang mempunyai gugus $-OH$ (Creswell, dkk., 2005).

4.3.1 Alkaloid

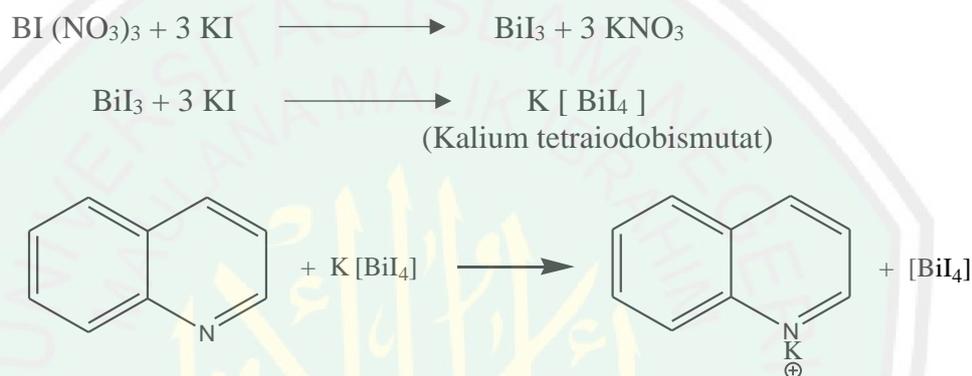
Keberadaan golongan senyawa alkaloid dalam ekstrak teripang *H. atra* diidentifikasi menggunakan beberapa reagen spesifik alkaloid, yaitu reagen Mayer dan Dragendorff. Sebelum ditambahkan reagen tersebut, terlebih dahulu ditambahkan HCl pada suatu larutan ekstrak karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak menggunakan pelarut yang asam (Harborne, 1996). Hasil positif alkaloid pada uji Mayer diketahui dengan terbentuknya endapan kuning yang diperkirakan sebagai kompleks kalium-alkaloid. Kompleks ini terbentuk karena alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry, 2004). Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana, 2005). Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji Mayer dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Dugaan reaksi uji Mayer

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan jingga yang diperkirakan merupakan kompleks kalium-

alkaloid. Pada uji alkaloid dengan reagen Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ dari kalium tetraiodobismutat sehingga dihasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Perkiraan reaksi yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Dugaan reaksi uji Dragendorff

Hasil identifikasi senyawa aktif ekstrak *H.atra* berdasarkan Tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak teripang *H.atra* mengandung golongan senyawa alkaloid karena terbentuk endapan saat ditambahkan reagen Mayer dan Dragendorf. Murniasih dkk. (2015) juga menemukan adanya golongan senyawa alkaloid pada ekstrak teripang *H.atra* asal perairan Jor Bay Lombok Timur.

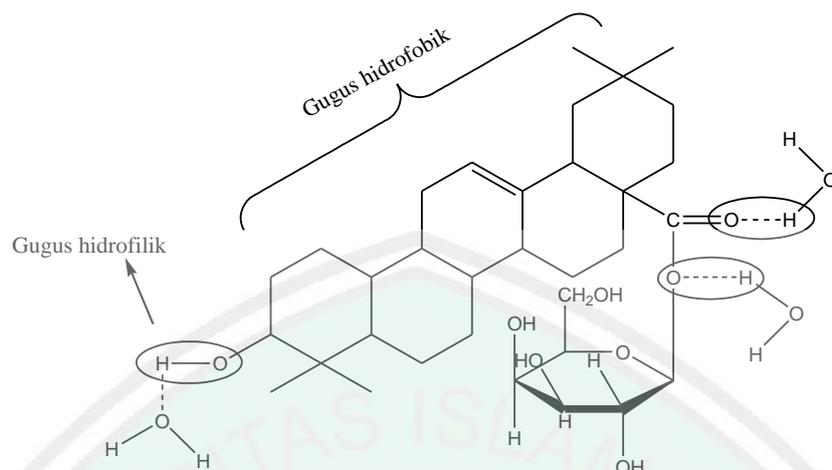
4.3.2 Triterpenoid

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak teripang *H.atra* menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dalam ekstrak tersebut. Hal ini diketahui dari terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut saat ditambahkan reagen Liebermann-Burchard. Reagen ini merupakan campuran antara anhidrida asetat dan asam sulfat

pekat. Sebelum ditambahkan reagen tersebut, terlebih dahulu ditambahkan kloroform untuk melarutkan senyawa triterpenoid karena larut baik dalam kloroform. Senyawa triterpenoid/steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat H_2SO_4 dan membentuk ion yang memberikan sejumlah reaksi warna. Perubahan warna ini disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan steroid/triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Al-Quais, 2015).

4.3.3 Saponin

Keberadaan saponin dalam ekstrak teripang *H.atra* teridentifikasi pada ekstrak metanol. Hal ini ditandai dengan terbentuknya buih atau busa yang dapat bertahan selama 30 menit. Timbulnya buih ini disebabkan karena sifat saponin yang dapat menurunkan tegangan permukaan air. Molekul saponin mengandung gugus hidrofilik (bagian polar) dan hidrofobik (bagian non-polar). Penambahan air menyebabkan gugus hidrofilik pada struktur saponin membentuk ikatan hidrogen dengan air, sedangkan gugus hidrofobiknya akan cenderung menjauh dari air (Kristianti, 2007). Dugaan interaksi antara saponin dengan air dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Dugaan interaksi antara saponin dengan air (Kristianti, 2007).

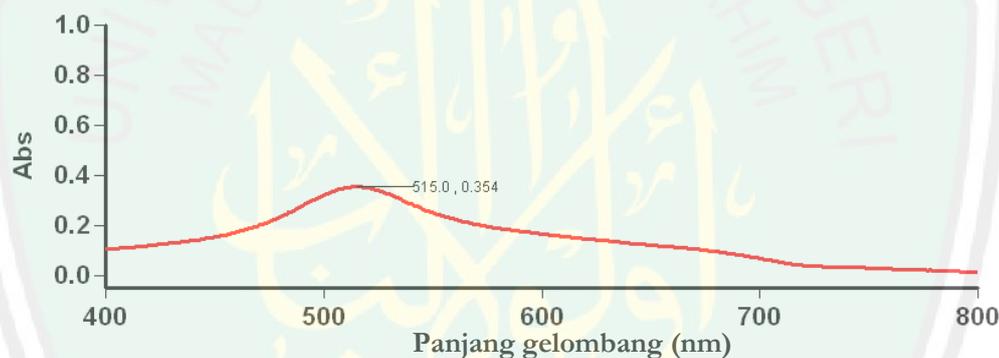
Gugus hidrofilik dapat bergabung dengan air namun gugus hidrofobik tidak dapat berinteraksi dengan air karena gaya adhesinya lebih kecil dibandingkan gaya kohesi antar molekul air. Hal ini mengakibatkan zat tersebut diadsorpsi pada antarmuka air-udara. Adsorpsi molekul saponin pada antarmuka air-udara berakibat pada turunnya tegangan permukaan air yang dapat menimbulkan buih. Oleh karena itu, dengan adanya alasan ini maka saponin dapat diklasifikasikan sebagai zat aktif permukaan (surfaktan) (Octaviani, 2009).

Keberadaan senyawa saponin dalam ekstrak metanol teripang *H. atra* ini juga semakin memperkuat penelitian-penelitian sebelumnya tentang keberadaan saponin dalam teripang *H. atra*. Basir (2013) menemukan adanya saponin pada ekstrak metanol teripang *H. atra* asal Kepulauan Seribu. Selain itu, Oktaviani, dkk. (2015) juga menemukan adanya senyawa saponin dalam ekstrak metanol jeroan teripang *H. atra* asal perairan Pulau Biawak.

4.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak *H. atra* Menggunakan Metode DPPH

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal DPPH

Proses pengujian aktivitas antioksidan ekstrak teripang *H. atra* diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimal DPPH yang akan digunakan untuk mengukur seberapa besar kemampuan ekstrak teripang *H. atra* sebagai antioksidan. Hal ini dikarenakan pada panjang gelombang maksimal, tingkat galat atau kesalahan adalah yang paling kecil. Spektrum UV-Vis hasil pengukuran panjang gelombang maksimal DPPH 0,2 mM dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Panjang gelombang maksimal DPPH

Berdasarkan spektra UV-Vis pada Gambar 4.6, dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimal DPPH 0,2 mM yang akan digunakan untuk proses pengukuran aktivitas antioksidan teripang *H. atra* adalah 515 nm. Hasil ini sesuai dengan penelitian Prakash (2001) yang menyatakan bahwa radikal DPPH mempunyai warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm. Panjang gelombang maksimal DPPH ini yang akan digunakan untuk proses pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak teripang *H. atra*.

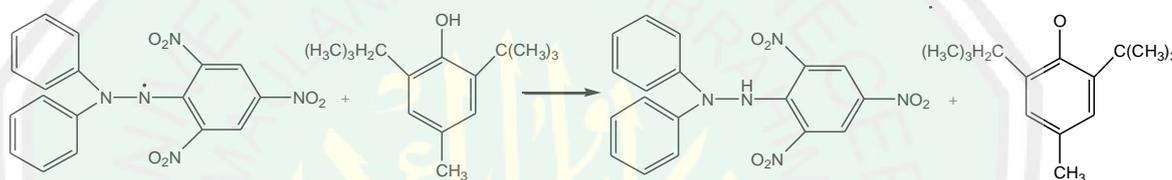
4.4.2 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teripang *H. atra* Menggunakan Metode DPPH

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak teripang *H. atra* dilakukan dengan metode DPPH karena metode ini merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk mengidentifikasi aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa, serta hasilnya terbukti akurat (Prakash, dkk., 2001). Kemampuan ekstrak dalam meredam radikal DPPH dapat dilihat secara kualitatif dengan berubahnya intensitas warna ungu yang merupakan warna komplementer DPPH menjadi kuning. Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning terjadi karena beberapa faktor, salah satunya yaitu adanya aktivitas penangkapan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal DPPH yang kemudian berubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H).

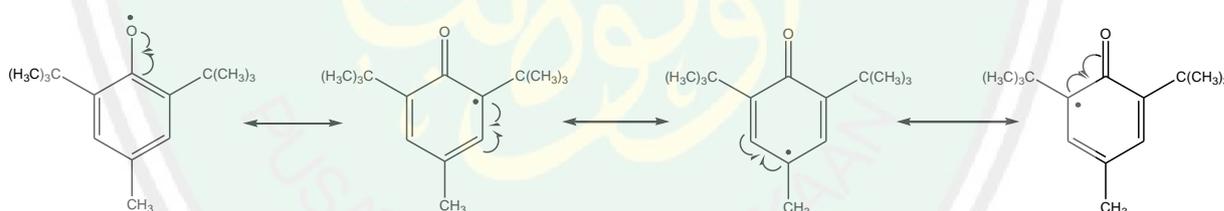
Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak *H. atra* ini diukur pada panjang gelombang maksimal DPPH yaitu 515 nm. Prinsip dari pengukuran ini yaitu jika absorbansi sisa DPPH lebih kecil daripada absorbansi kontrol, maka dapat diasumsikan bahwa sampel tersebut mempunyai aktivitas antioksidan. Besar atau kecilnya kemampuan sampel sebagai antioksidan dilihat dari nilai absorbansi DPPH sisa saat sudah ditambahkan sampel tersebut. Semakin besar nilai absorbansi DPPH sisa, maka aktivitas antioksidan sampel semakin kecil, sebaliknya jika nilai absorbansi DPPH sisa semakin kecil maka aktivitas antioksidan sampel semakin besar.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak metanol dan ekstrak *n*-heksana teripang hitam *H. atra* dibandingkan dengan antioksidan sintetik berupa BHT. Senyawa BHT berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan

atom hidrogennya pada radikal DPPH sehingga akan mereduksi DPPH menjadi DPPH-H, sedangkan BHT menjadi radikal fenoksi yang stabil. BHT merupakan salah satu golongan senyawa fenol karena adanya suatu gugus $-OH$ yang terikat pada cincin aromatik. Golongan ini merupakan antioksidan yang efektif karena produk radikal bebas senyawa-senyawa ini terstabilkan secara resonansi dan tidak reaktif dibandingkan dengan kebanyakan radikal bebas lain (Fessenden, 1982). Reaksi yang terjadi antara DPPH dan BHT dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh BHT (William, 1995 dalam Ernawati, 2013)



Gambar 4.8 Delokasi elektron radikal BHT (Daley dan Daley, 2005).

Hasil yang didapatkan kemudian dihitung aktivitasnya untuk mencari nilai EC_{50} yang merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan. Semakin besar nilai EC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin kecil, sebaliknya semakin kecil nilai EC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Hasil nilai EC_{50} dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Nilai EC₅₀ masing-masing sampel

Sampel	Nilai EC ₅₀ (ppm)
Ekstrak metanol	4652
Ekstrak <i>n</i> -heksana	3420
BHT	43,42

Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa nilai EC₅₀ ekstrak metanol dan *n*-heksana sangat tinggi jika dibandingkan dengan BHT. Hal ini menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan dari masing-masing ekstrak sangat lemah karena mempunyai nilai EC₅₀ lebih dari 1000 ppm. Sedangkan BHT mempunyai nilai EC₅₀ yang sangat kecil sehingga kemampuan antioksidannya sangat kuat.

Aktivitas antioksidan teripang *H. atra* asal perairan Banyuwangi ini cenderung lebih lemah dibandingkan aktivitas antioksidan teripang *H. atra* asal perairan India. Nobsatian, dkk. (2014) dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut metanol menemukan adanya aktivitas antioksidan teripang *H. atra* yang diperoleh dari Pusat Penelitian Perikanan Pesisir dan Pusat Pengembangan, Provinsi Prachuap Khiri Khan, Thailand tersebut dengan nilai EC₅₀ sebesar 43.76 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi lingkungan asal sampel sangat berpengaruh terhadap aktivitas biologis sampel tersebut.

Lemahnya aktivitas antioksidan teripang *H. atra* ini juga dapat disebabkan oleh beberapa faktor lain. Salah satu faktor tersebut yaitu sampel uji masih merupakan ekstrak kasar yang didalamnya terdapat berbagai jenis senyawa yang belum diketahui bagaimana pengaruhnya terhadap kapasitas antioksidan sampel. Terkadang senyawa-senyawa tersebut saling bersinergi atau saling menguatkan aktivitas sampel tersebut sebagai antioksidan, namun terkadang antara satu senyawa dengan senyawa lainnya tidak saling bersinergi sehingga aktivitas

antioksidannya menjadi lemah. Berdasarkan hal tersebut, lemahnya aktivitas antioksidan ekstrak teripang *H. atra* ini diduga karena senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya tidak saling bersinergis sehingga saling memperlemah kemampuannya sebagai antioksidan.

Keberadaan senyawa golongan fenolik dalam sampel juga sangat mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 4.2, dapat diketahui bahwa tidak ada golongan senyawa fenolik terutama flavonoid dalam ekstrak teripang *H. atra*. Selain itu, pola spektra hasil analisis pada Gambar 4.1 dan 4.2 juga tidak menunjukkan adanya senyawa fenolik yang terdeteksi. Keberadaan senyawa fenolik pada suatu sampel ditunjukkan dengan adanya serapan pada panjang gelombang 278 nm (Trivedi, dkk., 2015; Ferlinahayati, dkk., 2013). Sebagai pembanding, BHT yang merupakan golongan fenolik mempunyai serapan pada panjang gelombang 205, 247, dan 278 nm (Trivedi, dkk., 2015). Hal ini berbeda dengan hasil panjang gelombang yang terdeteksi pada ekstrak teripang *H. atra* dimana tidak terdeteksi serapan pada panjang gelombang 278 dan 247 nm. Berdasarkan hal tersebut, dapat diasumsikan bahwa tidak terdapat golongan senyawa fenolik dalam ekstrak teripang *H. atra* sehingga aktivitas antioksidannya menjadi sangat lemah.

4.5 Pemanfaatan Teripang Ditinjau dari Perspektif Islam

Teripang sebagai salah satu hewan yang hidup di lautan ternyata mempunyai beberapa manfaat bagi kehidupan manusia. Selain sebagai sumber makanan, teripang juga mampu berperan sebagai salah satu alternatif obat-obatan alami. Manfaat teripang yang begitu banyak bagi kehidupan tentunya tidak akan

pernah kita ketahui jika manusia tidak mau mempelajari dan melakukan riset terhadap salah satu ciptaan Allah swt tersebut. Allah swt berfirman terkait dengan perintah untuk mempelajari suatu ilmu yang baru dalam surat al-Alaq (96) : 1-5 :

أَقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ۝ ١ خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ ۝ ٢ أَلْفَرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ ۝ ٣ الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ ۝ ٤
عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ ۝ ٥

“Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu Yang menciptakan. Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmulah Yang Maha Pemurah. Yang mengajar (manusia) dengan perantaran kalam. Dia mengajar kepada manusia apa yang tidak diketahuinya.”(Q.S al-‘Alaq (96) : 1-5).

Berdasarkan ayat tersebut, Allah swt memerintahkan kepada seluruh umat manusia untuk selalu membaca, dalam artian berfikir secara teratur atau sistematis dalam mempelajari firman dan ciptaan-Nya, berfikir dengan mengkorelasikan antara ayat *qauliyah* dan *kauniyah* sehingga manusia akan mampu menemukan konsep-konsep sains dan ilmu pengetahuan. Bahkan perintah yang pertama kali diucapkan oleh Allah swt kepada Nabi Muhammad saw dan umat Islam sebelum perintah-perintah yang lain adalah mengembangkan sains dan ilmu pengetahuan serta bagaimana cara mendapatkannya. Ilmu pengetahuan ini dapat diperoleh dengan diawali membaca, karena membaca adalah kunci dari ilmu pengetahuan, baik membaca ayat *qauliyah* maupun *kauniyah*, sebab manusia lahir tidak mengetahui apa-apa. Pengetahuan manusia diperoleh melalui proses belajar dan melalui pengalaman yang dikumpulkan oleh akal serta indra pendengaran dan penglihatan demi untuk tercapainya sebuah tujuan (Sarwar, 1994 dalam Qutub, 2011). Salah satu hasil dari proses belajar tentang ayat *qauliyah* dan *kauniyah* Allah

swt ini yaitu ditemukannya potensi teripang sebagai salah satu sumber obat-obatan alami.

Ditemukannya potensi teripang sebagai sumber obat-obatan semakin memperjelas bahwa segala penyakit yang diturunkan oleh Allah swt pasti ada obatnya. Jika satu obat tidak mampu menyembuhkan suatu penyakit, pasti ada obat lain yang dapat menyembuhkannya. Rasulullah saw bersabda dalam riwayat Jabir Ibni Abdillah :

إِنَّ اللَّهَ مَا أَنْزَلَ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ دَوَاءً عَلَّمَهُ مَنْ عِلْمَهُ وَجَهَلَهُ مَنْ جَهْلَهُ فَإِنَّ أَصَابَ الدَّوَاءِ الدَّاءَ
بِرَأٍ بِإِذْنِ اللَّهِ (رواه مسلم)

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidak menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya, yang diketahui oleh orang yang mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak mengetahuinya. Jika obat menimpa penyakit, maka penyakit tersebut akan hilang dengan seizin Allah*” (HR. Muslim no. 5705).

Hadist tersebut menjelaskan kepada manusia untuk terus berusaha meskipun yang menentukan hasilnya adalah Allah swt. Begitupun saat terkena penyakit, kita sebagai manusia harus tetap berusaha untuk mencari obat yang sesuai untuk mempercepat proses penyembuhan. Salah satunya dapat berasal dari hewan laut seperti teripang.

Berdasarkan penelitian ini, dapat diketahui bahwa teripang *H. atra* mampu berperan sebagai antioksidan. Meskipun aktivitas antioksidannya lemah, namun adanya potensi dari teripang tersebut semakin memperjelas bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah swt tidaklah sia-sia. Hal ini juga tercantum dalam al-Qur’an surat Ali Imran (3) : 191 : (رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا), “*Ya Tuhan kami, tiadalah*

Engkau menciptakan ini dengan sia-sia” . Maksud dari ayat ini yaitu Allah swt tidak menciptakan segala sesuatu di alam ini dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran dan berbagai manfaat bagi kehidupan (Abdullah, 2003).



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisis data yang dilakukan, dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol teripang hitam *H. atra* antara lain golongan senyawa alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Sedangkan ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa metabolit sekunder berupa golongan senyawa alkaloid dan triterpenoid.
2. Potensi antioksidan ekstrak teripang *H. atra* asal perairan Wedi Ireng Banyuwangi tergolong sangat lemah karena nilai EC_{50} ekstrak tersebut lebih dari 1000 ppm. Ekstrak metanol mempunyai nilai EC_{50} sebesar 4652 ppm, sedangkan nilai EC_{50} ekstrak *n*-heksana sebesar 3420 ppm.

5.2 Saran

Proses ekstraksi sebaiknya dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi bertingkat dan dilakukan pemisahan senyawa metabolit sekunder dengan metode kromatografi kolom untuk membandingkan kekuatan aktivitas antioksidan teripang *H. atra* antara ekstrak kasarnya dengan senyawa yang sudah murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2003. *Lubaabut Tafsir Min Ibni Katsir*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Alfianda, N. S., Nanik, S. A., Mulyadi, T. dan Bambang, T. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya : Unair press.
- Althunibat, O. Y., Ridzwa, B. H., Taher, M., Jamaludin, M. D., Ikeda, M. A., & Zali, B. I. (2009). *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of three Malaysian sea cucumber species. *European Journal of Science Research*, 37(3): 376-387.
- Andarwulan, N. 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Kimia pangan: IPB*.
- Andayani, R., Maimunah dan Y. Lisawati. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13(1): 1-9.
- Arifin, H. N., Ningsih, R., Fitriyaningsih, A. A., dan Hakim, A. 2013. Antibacterial Activity Test Sea Cucumber Extract (*Holothuria scabra*) Sidayu Coast Gresik Using Disk Diffusion Method [Skripsi]. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Arnold, P.W., dan Birtles, R.A. 1989. Soft Sedimen Marine Invertebrates of Galanga (*Alpinia Galanga* (L) Willd) In Mice In Vivo By The Bone Marrow Micronuclei Method. *Research Institute Of Science, University Of Indonesia : Depok*.
- Basir, A. 2013. Aktivitas Antimalaria Ekstrak Teripang Kering (*Holothuria atra*) Terhadap *Plasmodium falciparum* Secara *In Vitro* [Skripsi]. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Institut Pertanian.
- Bandaranayake, W.M. dan Rocher, A.D. 1999. Role Of Secondary Metabolites And Pigments In The Epidermal Tissues, Ripe Ovaries, Viscera, Gut Content And Diet Of The Sea Cucumber *Holothuria atra*. *Marine Biology*, 133(1): 163-169.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi dan S. Meenakshi. 2009. *Natural Products : Chemistry and Application*. Narosa Publishing House, New Delhi. India.
- Bordbar, S., Anwar, F. dan Saari, N. 2011. High-Value Component and Bioactives from Sea Cucumber for Functional Foods. *Marine Drugs*, 9(10): 1761-1805.

- Conand, C. dan Byrne, M. 1993. A Review of Recent Development in The New World Sea Cucumber Fisheries. *Marine Fisheries Review*, 55 (4):1-13.
- Copriady J, Yasmi E, Hidayati . 2005. Isolasi dan karakterisasi senyawa kumarin dari kulit buah jeruk nipis (*Citrus hystrix* DC). *Jurnal Biogenesis*, 2(1): 13- 15.
- Creswell, C., Ruquist, O., dan Campbell, M. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organic*. Bandung: ITB
- Darsono, P. 1999. Reproduksi Aseksual Pada Teripang. *Oseana*, 24 (2): 1-11.
- Darusman, L. K., Sajuti, D., Komar., dan Pamungkas. 1995. Ekstraksi Komponen dari Kerang-kerangan, Bunga Karang dan Ganggang Laut Di Perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu. *Buletin Kimia*, 2(1): 41-60.
- DKP. 2003. *Statistik Perikanan Tangkap Indonesia, 2001*. Jakarta: DKP.
- Ernawati. 2013. Identifikasi Awal dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Pesisir Pamekasan dengan Metode DPPH [Skripsi]. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN.
- Ferlinahayati, Hakim, E. H., Syah, Y. M., dan Juliawaty, L. D. 2013. Karakterisasi Senyawa Fenol dari Kayu Batang *Morus Nigra*. *Jurnal Molekul*, 8(1): 43-48.
- Fessenden dan Fessenden. 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Hariyadi, P. 2013. Freeze Drying Technology: for Better Quality and Flavor of Dried Products. *Journal of Food Review indonesia*, 8 (2): 52-57.
- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak. Kapita Selekta Ilmu Kesehatan Anak*.
- Hogiono, dan Dangi. 1994. Peningkatan Nilai Tambah Tanaman Hortikultura yang Berpotensi Sebagai Bahan Dasar Sintesis Obat-Obatan Steroid. Surabaya: Jurusan Biologi Universitas Airlangga,.
- Houghton, P. J. and A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractination of Natural Extract*. London: Chapman and Hall.
- Imanta, E., dan Hidajati, N. 2017. Uji Biolarvasida Nyamuk *Aedes aegypty* dari Hasil Isolasi Ekstrak Metanol Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* NESS). *Journal of Chemistry*, 6(1): 36-41.

- Inayah, N. Ningsih, R. Adi, T. K., 2012. Uji Toksisitas Dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Dan N-Heksana Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Kering Pantai Kenjeran Surabaya [Skripsi]. Malang : Jurusan Kimia UIN Maliki Malang.
- Jayanti, N. W., Astuti, M. D., Komari, N., dan Rosyidah, K. 2012. Isolasi dan Uji Toksisitas Senyawa Aktif dari Ekstrak Metilena Klorida (MTC) Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* (L) Willd). *Chemistry Program*, 5 (2): 100-108.
- Johnson, I. T. 2001. *Antioxidants and Antitumour Properties*. in: Pokorny, J., N. Yanishlieva, M. Gordon. England: CRC Press.
- Juniarti, D. Osmeli dan Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl*) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius l.*). *Makara Sains*, 13(1) : 50-54.
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kong, Y. C., Cheng, K. F., Combie, R. C., dan Waterman, G. 1985. Yuehchukene: A Novel Indole Alkaloid With Antiimplantion Activity. *Journal Chemistry*, 0 (2): 47-48.
- Kristianti, P. A. 2007. Isolasi dan Identifikasi Glikosida Saponin Pada Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L) [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Kumalasari, E. dan N. Sulistyani. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 1(2): 51 – 62.
- Kustiariyah. 2007. Teripang Sebagai Sumber Pangan dan Bioaktif. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 10(1): 1-8.
- Lenny, S. 2006. Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode *Brine Shrimp*. *Jurnal*. Medan: USU.
- Mamelona, J., E. Pelletier., K.G. Lanlacette., J. Legault., S. Karboune, and S. Kermasha. 2007. Quantification of Phenolic Content's and Antioxidant Capacity of Atlantic Sea Cucumber, *Cucumaria Frondosa*. *Food Chemistry*, 104: 1040-1047.
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung : ITB Press.

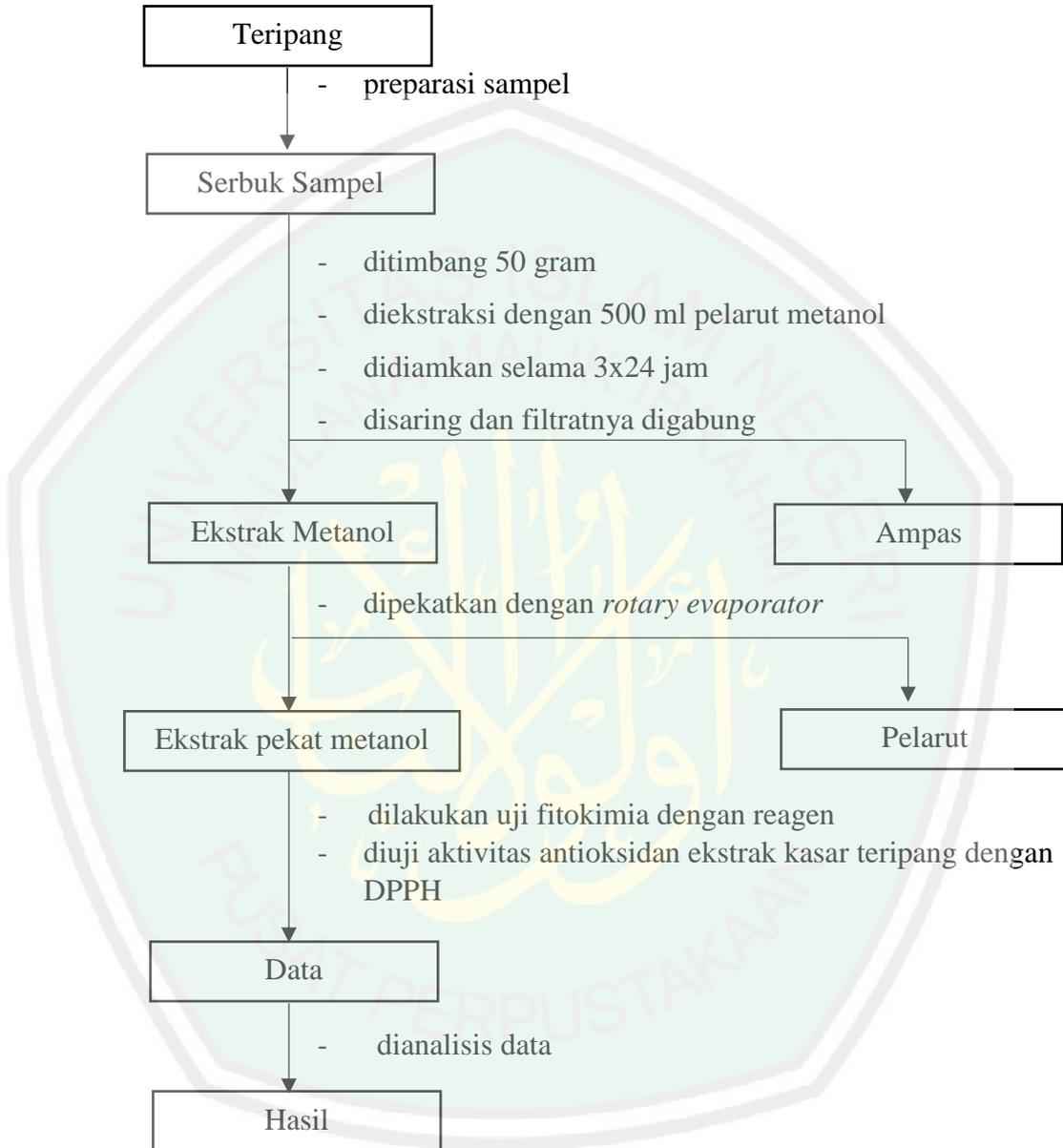
- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1): 26-31.
- McMurry, J. and R.C. Fay. 2004. *McMurry Fay Chemistry. 4th edition*. Belmont, CA.: Pearson Education International.
- Meydia. 2006. Isolasi Senyawa Steroid dari Teripang Gama *Stichopus variegates* dengan Berbagai Jenis Pelarut [Skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Mukharromah, R. R., dan Suyatno. 2014. Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Bakau Merah (*Rhizophora stylosa*). *UNESA Journal of Chemistry*, 3(3): 154-158.
- Murniasih, T., Putra, M. Y., dan Pangestuti, R. 2015. Antioxidant Capacities of *Holothuria* Sea Cucumbers. *Journal of Annales Bogorienses*, 19(2): 21-26.
- Nobsathian, S., Tuchinda, P., Sobhon, P., Tinikul, Y., Poljaroen, J., Tinikul, R., Sroyraya, M., Poomton, T., dan Chaichotranunt, S. 2016. An Antioxidant Activity of The Methanolic Extract of Black Sea Cucumber. *Journal of Traditional Medicine and Clinical Naturopathy*, 5(3): 1-4.
- Nofiani, R. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(2) : 120-125.
- Nugraheny, N. 2001. Ekstraksi Bahan Antibakteri dari Diatom Laut *Skeletonema costatum* dan Konsentrasi Hambatan Minimumnya Terhadap *Vibrio* sp. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Oktaviani, D., Mulyani, Y., dan Rochima, E. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Jeroan Teripang *Holothuria Atra* dari Perairan Pulau Biawak Kabupaten Indramayu. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 8(1) :1-6.
- Pelczar, M. J., and E. C. S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1 dan Jilid 2*. Diterjemahkan oleh : Hadiotema, R. S., T. Imas, S. S. Tjitrosomo, S. I. Angka. Jakarta: UI Press.
- Prakash, A; Rigelhof, F and Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories analytical Progress*, 19: 1-4.
- Pramita, D., Harlia., dan Sayekti, E. 2013. Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum (*Polygonum minus Huds*). *JKK*, 2 (3) : 142-147.

- Pranoto, E. N., Ma'ruf, W. F., dan Pringgenies, D. 2012. Kajian Aktivitas Bioaktif Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 1(1): 1-8.
- Purwati E. 2009. Profil komponen bioaktif tanaman kava-kava (*Piper methysticum*, Forst, f) dengan pelarut etanol dan methanol [skripsi]. Malang: Universitas Muhamadiyah Malang.
- Qutub, S. 2011. Sumber-Sumber Ilmu Pengetahuan dalam Al-Qur'an dan Hadist. *Jurnal Humaniora*, 2(2): 1339-1350.
- Rahayu, D., Hastuti, S.D. 2009. Stabilitas Saponin Sebagai Antioksidan Alami Hasil Isolasi Gel Daun Aloe Barbadensis Miller Pada Variasi Suhu dan Lama Simpan. *Jurnal Farmasi*, 1(1):1-15.
- Rahayu, D. S., Dewi, K. dan Enny, F. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*) dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) [Skripsi]. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
- Rahim, A. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode 1-1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Uji Terpenoid Terhadap Ekstrak *Acanthaster* [Skripsi]. Depok: Departemen Biologi Fakultas FMIPA Universitas Indonesia.
- Rasyid, A. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripng *Stichopus hermani*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 4 (2) : 360-368.
- Reynertson, K. A., Basile, M. J. & Kennelly, E. J., 2005, Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. *Ethnobotany Research & Applications*, 3: 025- 035.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rohman, A. R., Sugeng, dan Diah, U. 2005. Antioxidant Activities, Total Phenolic, and Flavonoid Contents of Ethyl Acetate Extract of Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L) Fruit and its Fractions. Fakultas Farmasi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Saifudin, A. 2002. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder : Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sandrasari, D. A. 2008. Kapasitas Antioksidan dan Hubungannya Dengan Nilai Total Fenol Ekstrak Sayuran *Indigenous* [Skripsi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.

- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala dan V. M. A. Makang. 2008. Analisa Fitokimia Tumbuhan Obat Di Minahasa Utara. *Chemistry Progress*, 1(1): 47-53.
- Santi, S. R. 2011. Senyawa Antimakan Triterpenoid Aldehid dalam Biji Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Jurnal Kimia*, 5(2): 163-168.
- Sari, E.M., Maruf, W.F., dan Sumardianto. 2014. Kajian Senyawa Bioaktif Ekstrak Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) Basah dan Kering Sebagai Antibakteri Alami. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4): 16-24.
- Sarwar, H. G. 1994. *Filsafat Alquran*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Setiadi, M. I. 2008. Sintesis Maltovanilat Melalui Mekanisme Steglich Menggunakan Pelarut Aseton [skripsi]. UI: Jurusan Kimia FMIPA.
- Soltani, M., Parivar, K., Baharara, J., Kerachian, A. A., & Asili, J. (2014). Hemolytic and cytotoxic properties of saponin purified from *Holothuria leucospilota* sea cucumber. *Reports of Biochemistry and Molecular Biology*, 3 (1): 1-8.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., dan Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 18(1) : 1-6.
- Trivedi, M.K., Branton, A., Trivedi, D., Nayak, G., Singh, R., dan Jana, S. 2015. Physicochemical and Spectroscopic Characterization of Biofield Treated Butylated Hydroxytoluene. *Journal Food and Industrial Microbiology*, 1(1): 1-7.
- Wafa, J.A., Adi, T.K., Hanapi, A., dan Fasya, A.G. 2014. Penentuan Kapasitas Antioksidan dan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) dari Pantai Kenjeran Surabaya. *Jurnal Alchemy*, 3 (1): 76-83.
- Wibowo S, Yunizal, Setiabudi E, Erlina M.D dan Tazwir. 1997. *Teknologi Penanganan dan Pengolahan Teripang (Holothuridea)*. Jakarta: IPPL Slipi.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Yuhernita, dan Juniarti. 2011. Analisa Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Makara, Sains*, 15 (1): 48-52.

LAMPIRAN

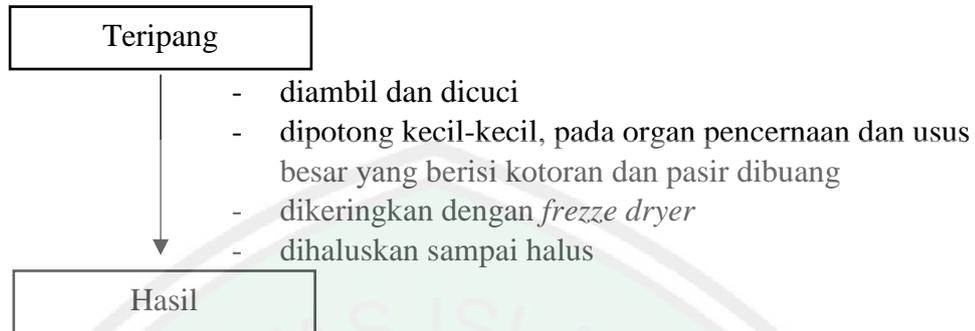
Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian



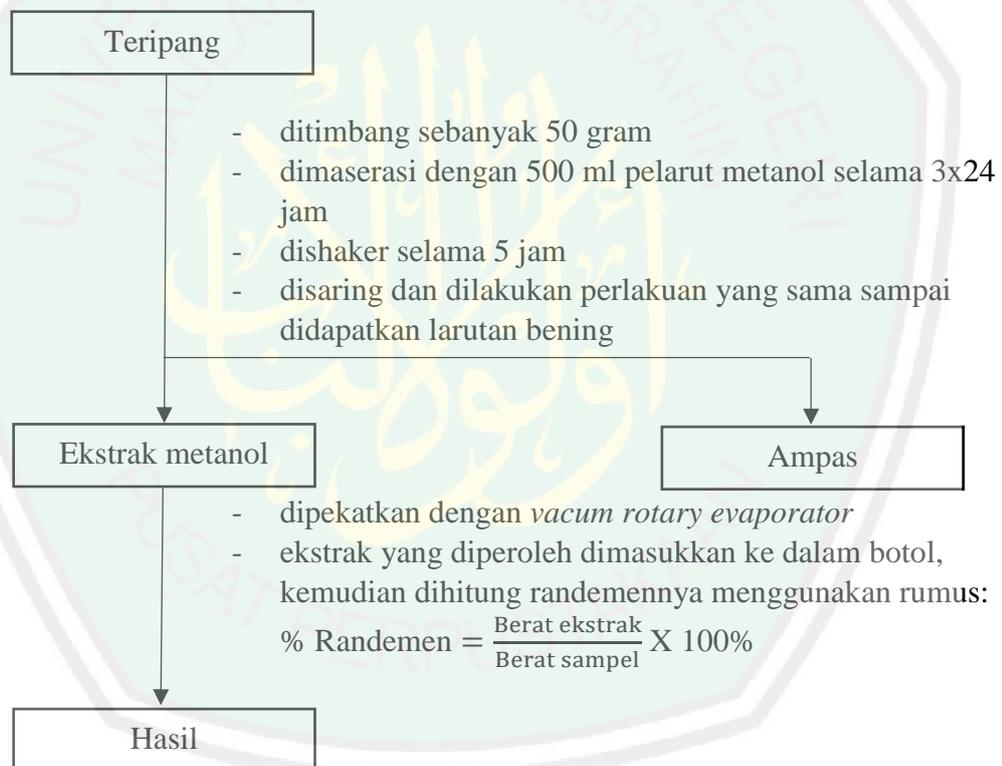
Catatan : dilakukan perlakuan yang sama dengan menggunakan pelarut *n*-heksana.

Lampiran 2. Skema Kerja

2.1 Preparasi sampel



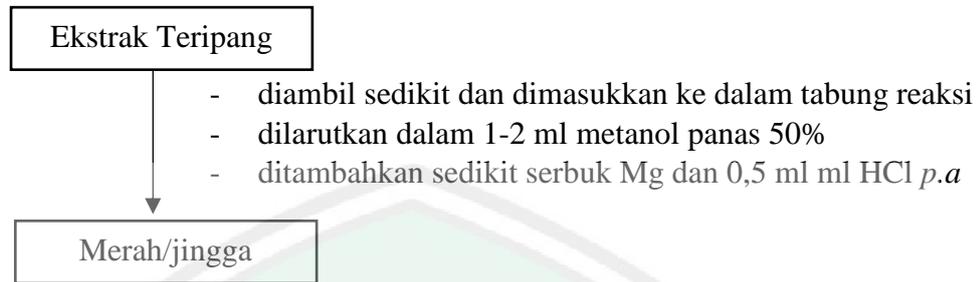
2.2 Ekstraksi dengan metode maserasi



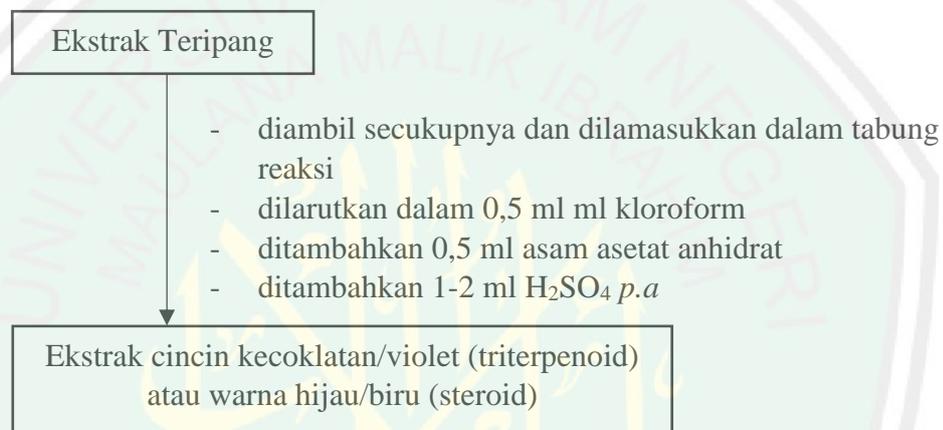
Catatan : dilakukan perlakuan yang sama menggunakan pelarut *n*-heksana.

2.3 Uji Fitokimia

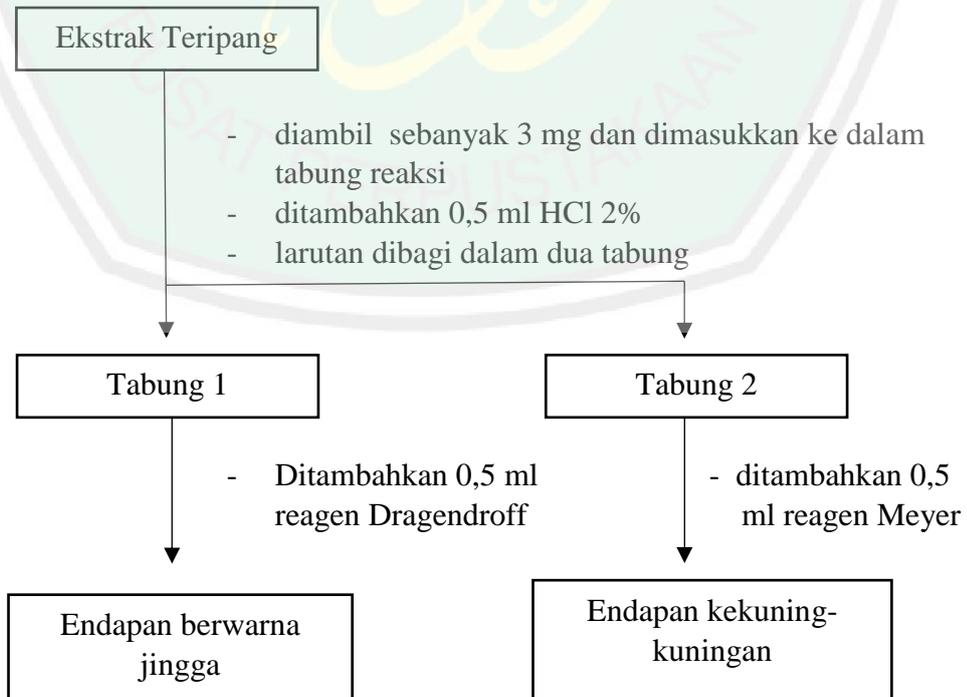
2.3.1 Uji Flavonoid



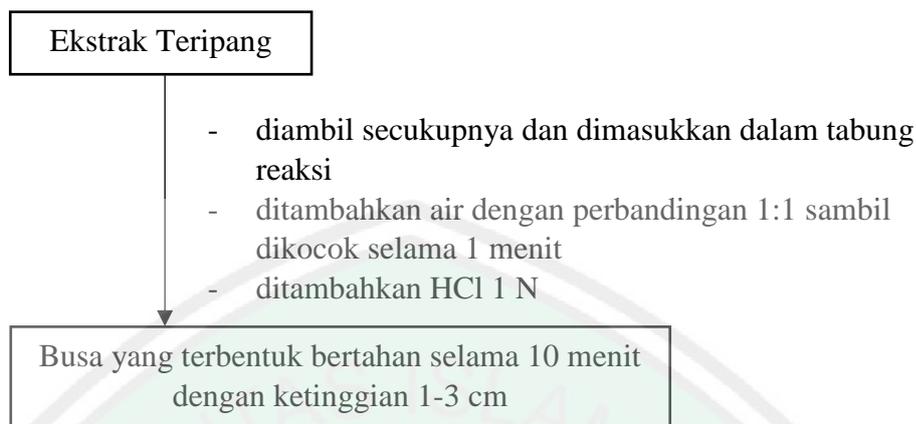
2.3.2 Uji Triterpenoid/Steroid



2.3.3 Uji Alkaloid

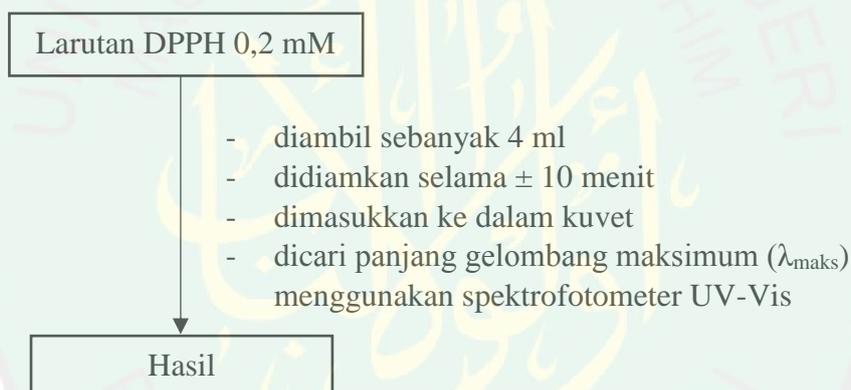


2.3.4 Uji Saponin



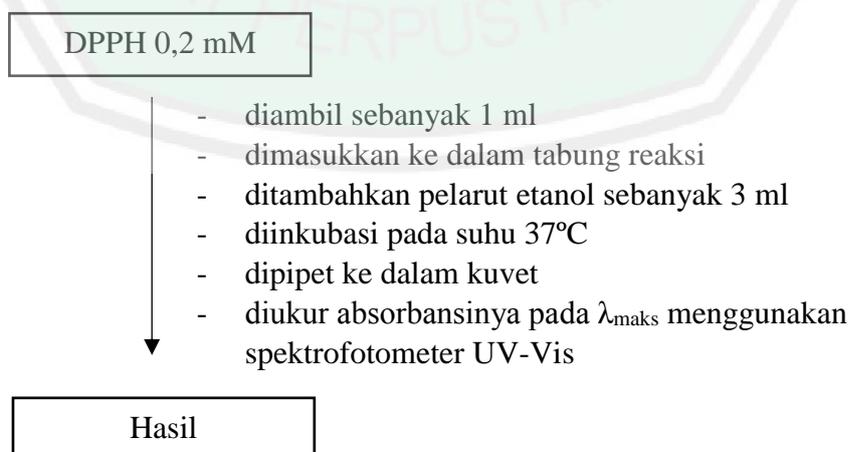
2.4 Uji aktivitas antioksidan hasil ekstraksi menggunakan metode DPPH

2.4.1 Penentuan panjang gelombang maksimum



2.4.2 Pengukuran Potensi Antioksidan pada Sampel

2.4.2.1 Absorbansi Kontrol



2.4.2.2 Absorbansi sampel dengan variasi konsentrasi

1. Ekstrak metanol

Ekstrak Teripang

- dilarutkan dalam 10 ml etanol *p.a* dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 150, 250, dan 350 ppm
- diambil dari masing-masing konsentrasi sebanyak 3 ml
- ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 ml
- diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm
- dihitung % aktivitas antioksidannya dengan rumus :
$$\frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Hasil

2. Ekstrak *n*-heksana

Ekstrak Teripang

- dilarutkan dalam 10 ml etanol *p.a* dengan variasi konsentrasi 100, 150, 200, 250, 400, dan 500 ppm
- diambil dari masing-masing konsentrasi sebanyak 3 ml
- ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 ml
- diinkubasi selama 80 menit pada suhu 37°C
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm
- dihitung % aktivitas antioksidannya dengan rumus :
$$\frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Perhitungan dan Pembuatan Reagen Serta Larutan

3.1.1 Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 50 ml

$$0,2 \text{ mM} = 0,0002 \text{ Molar}$$

$$\text{Mr DPPH (C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6) = 394,33 \text{ gr/mol}$$

$$\text{Molar} = 20 \text{ ml} \times 0,0002 \text{ M}$$

$$= 0,004 \text{ mmol}$$

$$= 0,004 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

$$\text{Gram} = \text{mol} \times \text{Mr DPPH}$$

$$= 0,004 \times 10^{-3} \text{ mol} \times 394,33 \text{ gr/mol}$$

$$= 1,57 \times 10^{-3} \text{ gram}$$

$$= 1,57 \text{ mg}$$

Larutan DPPH 0,2 mM dibuat dengan melarutkan 1,57 mg DPPH dalam 20 ml etanol *p.a.*

3.1.2 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak untuk Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan larutan stok dari ekstrak teripang dengan konsentrasi 1000 ppm:

$$\text{ppm} = \text{mg/l}$$

$$\text{mg} = \text{ppm} \times \text{L (jika dibuat larutan stok 50 ml} = 50 \times 10^{-3} \text{ l)}$$

$$= 1000 \text{ ppm} \times 50 \times 10^{-3} \text{ l}$$

$$= 50 \text{ mg}$$

Larutan stok 1000 ppm dari masing-masing ekstrak dibuat dengan melarutkan 50 mg ekstrak dalam 50 ml masing-masing pelarutnya.

b. Pembuatan larutan ekstrak 25 ppm dengan volume 10 ml

$$\begin{aligned}
 V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\
 V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 25 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 &= 0,25 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Jadi, larutan ekstrak 25 ppm dapat dibuat dengan melarutkan 0,25 ml larutan stok dalam 10 ml pelarutnya. Dengan cara yang sama, larutan ekstrak 50, 100, 150, 200, 250, 350, 400, dan 500 ppm dibuat dengan melarutkan 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3,5; 4; 4,5; dan 5 ml larutan stok masing-masing dalam 10 ml pelarutnya.

3.1.3 Pembuatan Reagen untuk Uji Fitokimia

3.1.3.1 Pembuatan HCl 2 %

$$\begin{aligned}
 V_1 \cdot M_1 &= V_2 \cdot M_2 \\
 V_1 \cdot 37 \% &= 10 \text{ ml} \cdot 2 \% \\
 V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \cdot 2 \%}{37 \%} \\
 &= 0,5 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Jadi, HCl 2 % dapat dibuat dengan memasukkan 0,5 ml HCl 37 % ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan aquades ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Larutan kemudian dikocok sampai homogen.

3.1.3.2 Pembuatan reagen Dragendorff

Larutan I. 0,6 gr $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 ml HCl pekat dan 10 ml aquades.

Larutan II. 6 gr KI dalam 10 ml aquades.

Larutan I reagen Dragendorff dapat dibuat dengan melarutkan 0,6 gram $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ke dalam 2 ml HCl pekat dan 10 ml aquades. Sedangkan larutan II dapat dibuat dengan melarutkan 6 gr KI dalam 10 ml aquades. Kedua larutan

kemudian dicampur dan ditambahkan 7 ml HCl pekat dan 15 ml aquades (Wagner, 2001).

3.1.3.3 Pembuatan reagen Mayer

Larutan I. 1,358 gr HgCl_2 dalam 60 ml aquades

Larutan II. 5 gr KI dalam 10 ml aquades

Larutan I reagen Mayer dibuat dengan melarutkan 1,358 gram HgCl_2 dalam 60 ml aquades. Sedangkan Larutan II dibuat dengan melarutkan 5 gram KI dalam 10 ml aquades. Kemudian larutan I dituangkan ke dalam larutan II, dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 ml (Manan, 2006).

3.1.3.4 Pembuatan Reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat 5 ml

Anhidrida asetat 5 ml

Metanol absolut 50 ml

Reagen Lieberman-burchard dibuat dengan cara mencampurkan 5 ml asam sulfat pekat dan 5 ml anhidrida asetat ke dalam 50 ml metanol absolut. Larutan kemudian didinginkan dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini harus langsung digunakan setelah pembuatan (Wagner, 2001).

3.1.3.5 Pembuatan larutan HCl 1 N

BJ HCl pekat = 1,19 gr/ml = 1190 gr/L

Konsentrasi = 37 %

BM HCl = 36,42 rr/mol

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{37\% \times BJ \text{ HCl}}{BM \text{ HCl pekat}}$$

$$= \frac{37\% \times 1190 \text{ gr/L}}{36,42 \text{ gr/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ ml}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ ml}$$

Larutan HCl 1 N dibuat dengan cara mencampurkan 8,27 ml HCl pekat 37% dengan aquades 15 ml dalam labu ukur 100 ml. Kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3.1.3.6 Pembuatan Metanol 50 %

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

$$99,8\% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

Metanol 50 % dibuat dengan cara memasukkan 5 ml larutan metanol 99,8 % ke dalam labu ukur 10 ml yang berisi 5 ml aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Randemen

4.1 Ekstrak Metanol Teripang *H. atra*

$$\begin{aligned}\text{Berat sampel} &= 50 \text{ gr} \\ \text{Berat Ekstrak} &= 5,41 \text{ gr} \\ \text{Randemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{5,41 \text{ gr}}{50 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 10,82 \%\end{aligned}$$

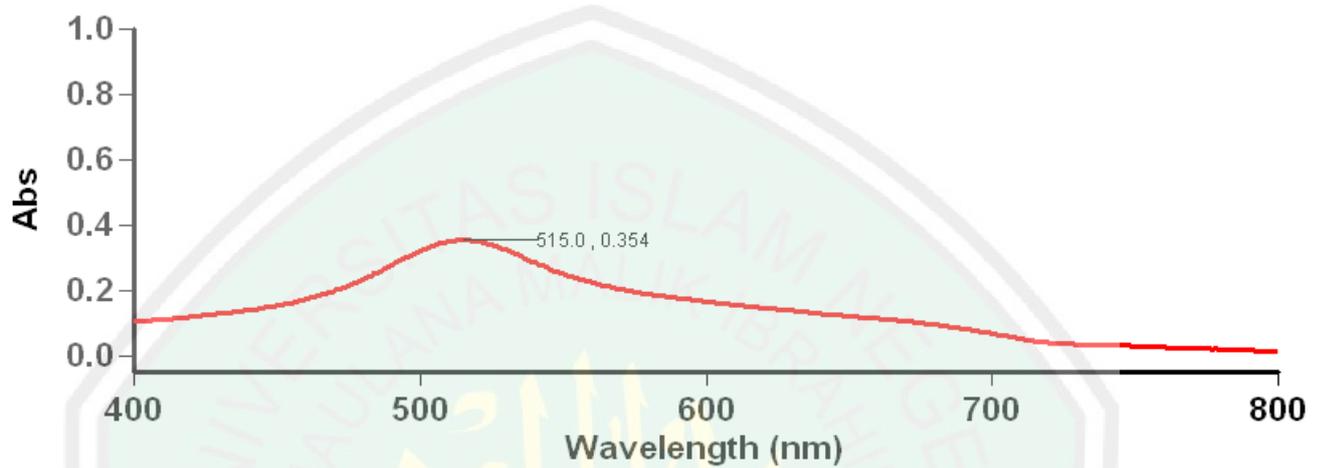
4.2 Ekstrak *n*-Heksana Teripang *H. atra*

$$\begin{aligned}\text{Berat sampel} &= 50 \text{ gr} \\ \text{Berat Ekstrak} &= 0,45 \text{ gr} \\ \text{Randemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,45 \text{ gr}}{50 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 0,9 \%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Data Hasil Uji Antioksidan

5.1 Panjang Gelombang Maksimal DPPH

Tanggal Analisa : 05 Juni 2017



Scan Analysis Report

Report Time : Mon 05 Jun 01:43:55 PM 2017

Method:

Batch: D:\Ahmad Baidhowi\Lamdha Maks DPPH (05-06-2017).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: DPPH

Collection Time 6/5/2017 1:44:25 PM

Peak Table

Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.0nm to 400.1nm

Wavelength (nm)	Abs
515.0	0.354

5.2 Hasil Pembacaan Spektrofotometri UV-Vis

5.2.1 Ekstrak Metanol Teripang *H.atra*

Absorbansi DPPH Ekstrak Metanol

Tanggal Analisa : 07 Juni 2017

Advanced Reads Report

Report time 6/7/2017 1:48:58 PM
 Method
 Batch name D:\Ahmad Baidhowi\Absorbansi DPPH Ekstrak Metanol
 (07-06-2017).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 515.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 ReplECates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1092)	515.0

Analysis

Collection time 6/7/2017 1:48:58 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
--------	---	------	----	------	----------

Kontrol				0.5487
				0.5487
	0.5487	0.0001	0.01	0.5488
25 ppm				0.5471
				0.5474
	0.5472	0.0002	0.03	0.5472
Kontrol				0.5502
				0.5503
	0.5502	0.0002	0.03	0.5500
50 ppm				0.5446
				0.5448
	0.5448	0.0002	0.03	0.5449
Kontrol				0.5484
				0.5484
	0.5485	0.0002	0.04	0.5488
100 ppm				0.5375
				0.5376
	0.5375	0.0001	0.02	0.5374
Kontrol				0.5478
				0.5483
	0.5481	0.0003	0.05	0.5481
150 ppm				0.5255
				0.5258
	0.5257	0.0001	0.03	0.5258
Kontrol				0.5472
				0.5474
	0.5472	0.0002	0.03	0.5471

250 ppm				0.5129	0.5129
					0.5133
	0.5129	0.0003	0.07	0.5126	
Kontrol				0.5463	0.5463
					0.5465
	0.5464	0.0001	0.01	0.5464	
350 ppm				0.5073	0.5073
					0.5071
	0.5070	0.0003	0.07	0.5067	

Results Flags Legend

R = Repeat reading

5.2.2 Ekstrak *n*-Heksana Teripang *H.atra*

Absorbansi DPPH Ekstrak *n*-Heksana

Tanggal Analisa : 07 Juli 2017

Advanced Reads Report

Report time 7/7/2017 3:04:29 PM
 Method
 Batch name D:\Ahmad Baidhowi\Absorbansi DPPH Ekstrak
 n-Heksana (07-07-2017).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 515.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000

RepleCates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0855)	515.0

Analysis

Collection time 7/7/2017 3:04:29 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.3463
					0.3463
		0.3463	0.0000	0.01	0.3463
100 ppm					0.3461
					0.3463
		0.3462	0.0001	0.03	0.3462
Kontrol					0.3476
					0.3477
		0.3477	0.0001	0.03	0.3478
150 ppm					0.3441
					0.3441
		0.3441	0.0000	0.01	0.3441
Kontrol					0.3468
					0.3467
		0.3467	0.0001	0.04	0.3465
200 ppm					0.3380

				0.3384
	0.3382	0.0002	0.06	0.3381
Kontrol				0.3467
				0.3465
	0.3467	0.0002	0.06	0.3469
250 ppm				0.3356
				0.3352
	0.3355	0.0003	0.10	0.3358
Kontrol				0.3471
				0.3473
	0.3472	0.0001	0.03	0.3472
400 ppm				0.3337
				0.3336
	0.3340	0.0006	0.19	0.3347
Kontrol				0.3478
				0.3479
	0.3478	0.0001	0.02	0.3478
500 ppm				0.3239
				0.3243
	0.3240	0.0002	0.07	0.3239

Results Flags Legend

R = Repeat reading

5.2.3 BHT

Absorbansi DPPH Sampel BHT

Tanggal Analisa : 02 Agustus 2017

Advanced Reads Report

Report time 8/2/2017 1:22:44 PM
 Method
 Batch name D:\Ahmad Baidhowi\Absorbansi DPPH Sampel BHT
 (02-08-2017).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 515.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 ReplECates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1879)	515.0

Analysis

Collection time 8/2/2017 1:22:44 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.3505
					0.3506
		0.3505	0.0001	0.02	0.3505
25 ppm					0.2270
					0.2270
		0.2269	0.0002	0.07	0.2268

Kontrol				0.3479
				0.3476
	0.3478	0.0001	0.04	0.3479
50 ppm				0.1771
				0.1771
	0.1771	0.0001	0.04	0.1772
Kontrol				0.3475
				0.3474
	0.3473	0.0001	0.04	0.3472
75 ppm				0.1195
				0.1186
	0.1190	0.0005	0.39	0.1190
Kontrol				0.3464
				0.3465
	0.3464	0.0001	0.02	0.3464
100 ppm				0.0695
				0.0695
	0.0696	0.0003	0.39	0.0700
Kontrol				0.3478
				0.3476
	0.3477	0.0002	0.05	0.3475
125 ppm				0.0263
				0.0266
	0.0263	0.0003	1.22	0.0259

Results Flags Legend

R = Repeat reading

5.3 Data Hasil Perhitungan Nilai EC₅₀ Ekstrak Teripang *H. atra*

5.3.1 Ekstrak Metanol Teripang *H. atra*

Tabel L.5.1 Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan ekstrak metanol

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Blanko	Ulangan			Absorbansi Rata-Rata	Standart Deviasi	% Aktivitas Antioksidan
		1	2	3			
25	0,5487	0,5471	0,5474	0,5472	0,5472	0,0002	0,27
50	0,5502	0,5446	0,5448	0,5449	0,5448	0,0002	0,98
100	0,5485	0,5375	0,5376	0,5374	0,5375	0,0001	2,01
150	0,5481	0,5255	0,5258	0,5258	0,5257	0,0001	4,08
250	0,5472	0,5129	0,5133	0,5126	0,5129	0,0003	6,26
350	0,5464	0,5073	0,5071	0,5067	0,5070	0,0003	7,20

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom = 0,0

Top = 100,0

LogEC50 = 3,668

HillSlope = 0,9615

EC50 = 4652

Span = 100,0

Std. Error

LogEC50 = 0,1674

HillSlope = 0,1263

95% Confidence Intervals

LogEC50 = 3,203 to 4,132

HillSlope = 0,6110 to 1,312

EC50 = 1596 to 13561

Goodness of Fit

Degrees of Freedom = 4

R square = 0,9691

Absolute Sum of Squares = 1,255

Sy.x = 0,5601

Constraints

Bottom = Bottom = 0,0

Top	Top = 100,0	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,0	
Top	= 100,0	
LogEC50	3,668	3,668
HillSlope	0,9615	0,9615
EC50	4652	4652
Span	= 100,0	
Std. Error		
LogEC50	0,1674	0,1674
HillSlope	0,1263	0,1263
95% Confidence Intervals		
LogEC50	3,203 to 4,132	3,203 to 4,132
HillSlope	0,6110 to 1,312	0,6110 to 1,312
EC50	1596 to 13561	1596 to 13561
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R square	0,9691	0,9691
Absolute Sum of Squares	1,255	1,255

5.3.2 Ekstrak *n*-Heksana Teripang *H.atra*

Tabel L.5.2 Hasil perhitungan % aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Blanko	Ulangan			Absorbansi Rata-Rata	Standart Deviasi	% Aktivitas Antioksidan
		1	2	3			
100	0,3463	0,3461	0,3463	0,3462	0,3462	0,0001	0,03
150	0,3477	0,3441	0,3441	0,3441	0,3441	0,0000	1,04
200	0,3467	0,3380	0,3384	0,3381	0,3382	0,0002	2,45
250	0,3467	0,3356	0,3352	0,3358	0,3355	0,0003	3,23
400	0,3472	0,3337	0,3336	0,3347	0,3340	0,0006	3,80
500	0,3478	0,3239	0,3243	0,3239	0,3240	0,0002	6,84

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom	= 0,0	
Top	= 100,0	
LogEC50	3,534	
HillSlope	1,393	
EC50	3420	
Span	= 100,0	
Std. Error		
LogEC50	0,1967	
HillSlope	0,2918	
95% Confidence Intervals		
LogEC50	2,988 to 4,080	
HillSlope	0,5834 to 2,203	
EC50	973,1 to 12023	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R square	0,9126	
Absolute Sum of Squares	2,478	
Sy.x	0,7870	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0,0	
Top	Top = 100,0	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,0	
Top	= 100,0	
LogEC50	3,534	3,534
HillSlope	1,393	1,393
EC50	3420	3420
Span	= 100,0	
Std. Error		
LogEC50	0,1967	0,1967

HillSlope	0,2918	0,2918
95% Confidence Intervals		
LogEC50	2,988 to 4,080	2,988 to 4,080
HillSlope	0,5834 to 2,203	0,5834 to 2,203
EC50	973,1 to 12023	973,1 to 12023
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R square	0,9126	0,9126
Absolute Sum of Squares	2,478	2,478
Sy.x		0,7870



Lampiran 6. Dokumentasi Hasil Penelitian
6.1 Hasil Maserasi Menggunakan Pelarut



Metanol



***n*-heksana**

6.2 Hasil Uji Fitokimia
6.2.1 Ekstrak Metanol



Alkaloid



Triterpenoid



Saponin



Flavonoid

6.2.2 Ekstrak *n*-Heksana



Alkaloid



Triterpenoid



Saponin



Flavonoid

6.3 Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan



Ekstrak Metanol



Ekstrak n-Heksana



BHT