

IDENTIFIKASI SENYAWA SAPONIN DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN LAMUN (*Thalassia hemprichii*)

Iin F. Suleman¹, Rieny Sulistijowati^{1*}, Shindy Hamidah Manteu¹, Wila Rumina Nento¹

¹Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Negeri Gorontalo,
Jl.Jenderal Sudirman No.06, Kota Gorontalo 96128, Gorontalo, Indonesia

*Korespondensi: rienysulistijowati@ung.ac.id

(Diterima 24-06-2022; Direvisi 20-07-2022; Dipublikasi 29-07-2022)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa saponin dan uji aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak daun lamun *Thalassia hemprichii* dari Perairan Pesisir Teluk Tomini. Lamun mengandung berbagai senyawa bioaktif salah satunya berfungsi sebagai antioksidan, serta kaya akan protein, lemak, serat dan mineral-mineral. Penelitian ini terdiri atas ekstraksi, uji saponin, dan aktivitas antioksidan diuji menggunakan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Ekstrak metanol *Thalassia hemprichii* memiliki senyawa saponin, ekstrak etil asetat tidak terdeteksi memiliki senyawa saponin. Kadar senyawa saponin ekstrak metanol dengan menggunakan metode gravimetri sebesar 12,63%. Niali aktivitas antioksidan IC₅₀ *T. hemprichii* sebesar 1,25 ppm atau 1,25 mg/L.

Kata kunci : DPPH; Ekstraksi; Gravimetri; Uji_buih; Uji_warna.

IDENTIFICATION OF SAPONIN AND ANTIOXIDANT LEAVES SEAGRASS EXTRACTS (*Thalassia hemprichii*)

ABSTRACT

This study aims to identify saponin compounds and test the antioxidant activity contained in the leaf extract of *Thalassia hemprichii* seagrass from Tomini Bay Coastal Waters. Seagrass contains various bioactive compounds, one of which functions as an antioxidant, and is rich in protein, fat, fiber and minerals. This research consisted of extraction, saponin test, and antioxidant activity tested using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *Thalassia hemprichii* methanol extract has saponin compounds, ethyl acetate extract is not detected to have saponin compounds. Saponin content of methanol extract using the gravimetric method was 12.63%. The antioxidant activity value of IC₅₀ *T. hemprichii* is 1.25 ppm or 1.25 mg/L.

Keywords: DPPH; Extraction; Gravimetry; Test_foam; test_color.

PENDAHULUAN

Lamun (*seagrass*) adalah tumbuhan berbunga (*angiospermae*) yang dapat beradaptasi hidup di dalam air laut (Tristante *et al.*, 2014). Lamun memiliki peran penting dalam ekologi laut yang dekat dengan garis pantai, serta memiliki fungsi sebagai produsen utama, tempat berlindung, sebagai sumber makanan bagi populasi ikan, penyu, dan hewan invertebrate, selain itu lamun memiliki metabolit primer dan sekunder yang memiliki potensi sebagai antibakteri, antioksidan dan antifouling. Di perairan Teluk Tomini khususnya wilayah pesisir Kelurahan Leato Selatan Kota Gorontalo terdapat dua jenis lamun yaitu jenis *Thalassia hemprichii* dan *Cymodocea rotundata* (Yunus *et al.*, 2014). Lamun jenis *T. hemprichii* di perairan Teluk Tomini belum dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir. Lamun umumnya memiliki kandungan senyawa aktif berbeda tergantung dari morfologi setiap jenis dan kandungan bioaktif yang dimilikinya (Marhaeni *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian kandungan bioaktif telah dilakukan menggunakan bahan dasar lamun. Ulfa *et al.*, (2014) melaporkan *T. hemprichii* merupakan salah satu jenis tumbuhan perairan yang dapat menghasilkan antioksidan karena mengandung steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tannin. Raja-Kannan *et al.*, (2010) melaporkan *T. hemprichii* memiliki potensi bioaktif sebagai antioksidan dan mengandung senyawa golongan fenolik. Dewi *et al.*, (2012) *Thalassia hemprichii* mengandung senyawa bioaktif dari jenis flavonoid, alkaloid, dan steroid. Prayono *et al.*, (2021) Senyawa fitokimia yang terdapat pada lamun *T. ciliatum* adalah flavonoid, alkaloid, fenol, tannin, steroid dan triterpenoid, dan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 4279,56 ppm. *Thalassia hemprichii* memiliki kandungan senyawa aktif yaitu saponin yang mampu berperan sebagai antioksidan alami yang menjaga tubuh dari serangan radikal bebas.

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Saponin merupakan senyawa fitokimia yang mempunyai karakteristik berupa kemampuan membentuk busa dan mengandung aglikon polisiklik yang berikatan dengan satu atau lebih gula (Majinda, 2012). Untuk mendapatkan senyawa saponin maka perlu dilakukan pemisahan suatu zat (ekstraksi). Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan zat terlarut (solut) antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Ekstraksi menggunakan pelarut metanol telah banyak digunakan, diantara yaitu hasil penelitian Mani *et al.*, (2012) hasil ekstrak methanol lamun *Syringodium isoetifolium* ditemukan beragam senyawa metabolit sekunder seperti saponin, fenol dan alkaloid. Labagu *et al.*, (2022), *Sonneratia alba* diekstrak metanol menghasilkan daya hambat DPPH dari saponin terukur tinggi dibandingkan dengan saponin dalam

ekstrak air. Lamun *T. hemprichii* dapat dimanfaatkan salah satunya yaitu sebagai antioksidan alami. Tujuan dari penelitian ini yakni untuk mengidentifikasi senyawa saponin dan uji aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak daun lamun *Thalassia hemprichii* yang berasal dari Perairan Pesisir Teluk Tomini, Kelurahan Leato Selatan Kota Gorontalo Provinsi Gorontalo.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah transek kuadran, blender (miyako CH-501, China), alat-alat gelas (Pyrex, Japan), timbangan digital, mikro pipet, *waterbath*, *hot plate*, *spektrofotometri Uv-Vis* (UV-2500, Japan). Bahan baku yang digunakan dalam penelitian adalah daun lamun *Thalassia hemprichii* yang berasal dari Perairan Pesisir Teluk Tomini, Kelurahan Leato Selatan Kota Gorontalo. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, etil asetat, n-heksan, HCl 2 N, n-butanol, kuaades, kristal 1,1-*diphenyl-2-picrilhydrazil* (DPPH) dan vitamin E, kertas saring, alumunium foil, kapas dan tisu.

Prosedur Uji

Preparasi Sampel

Sampel daun lamun *T. hemprichii* diperoleh dari perairan pesisir teluk tomini, Kelurahan Leato Selatan Kota Gorontalo dari tiga titik pengambilan sampel dengan total keseluruhan sebanyak 3.000 gr. Sampel dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran-kotoran yang masih menempel pada daun lamun. Lamun yang telah dicuci dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel daun lamun yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender, kemudian disaring menggunakan ayakan 100 *mesh* dan didapatkan tepung lamun.

Ekstraksi

Ekstraksi bahan aktif dari daun lamun *Thalassia hemprichii* menggunakan metode maserasi bertingkat yang diacu dari Putri (2011). Ekstraksi bahan aktif dilakukan dengan melarutkan simplisia daun lamun dalam pelarut metanol, selanjutnya sampel dimaserasi menggunakan *magnetic stirrer* \pm 48 jam pada suhu ruang. Sampel disaring menggunakan kain *nylon* 500 mesh dan kertas saring. Ekstrak cair kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45 °C sehingga diperoleh ekstrak kasar dalam bentuk pasta. Sampel dengan pelarut etil asetat dilakukan proses ekatraksi sama dengan pelarut metanol.

Identifikasi Senyawa Saponin (Uji Kualitatif)

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang dapat membentuk buih jika dikocok dalam air. Pengujian identifikasi saponin dilakukan dengan melihat adanya buih yang stabil pada ekstrak sampel. Uji buih diacu Mien *et al.*, (2015), ekstrak sampel 0,5 gr dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas dikocok \pm 1 menit. Saponin positif jika terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 sampai 10 cm dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang.

Uji warna diacu pada Bintoro *et al.*, (2017) ekstrak sampel sebanyak 0,5 gr dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisikan kloroform 10 mL, dipanaskan \pm 5 menit dengan penangas air sambil dikocok. Kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi *Lieberman Burchard* (LB). Jika terbentuk cincin coklat atau violet maka menunjukkan adanya saponin triterpen, sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid.

Pengujian Kadar Saponin (Uji Kuantitatif) Metode Gravimetri

Pengujian kadar saponin diacu pada Mien *et al.*, (2015) dengan dimodifikasi yaitu sebanyak 1 gr masing-masing ekstrak sampel metanol direfluks dengan 50 ml n-heksan pada suhu 60-80 °C selama 30 menit. Setelah dingin larutan n-heksan dibuang dan residu yang tertinggal dilarutkan dalam 50 mL etil asetat. Larutan dipindahkan ke corong pisah kemudian dipisahkan larutan etil asetat. Residu yang tertinggal dilarutkan dengan n-butanol sebanyak 3 kali masing-masing dengan 50 mL. Seluruh larutan n-butanol dicampur dan diuapkan dengan rotavapor. Sisa penguapan dilarutkan dengan methanol 10 mL kemudian larutan ini diteteskan kedalam 50 mL n-heksan sambil diaduk. Endapan yang terbentuk dalam campuran dituang pada kertas saring yang telah diketahui bobotnya. Endapan di atas kertas saring dikeringkan kemudian ditimbang sampai bobot tetap. Selisih bobot kertas saring sebelum dan sesudah penyaringan ditetapkan sebagai bobot saponin.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan diacu dari Suwandi *et al.*, (2010) dengan dimodifikasi larutan ekstrak sampel, vitamin E dan konsentrasi *Diphenylpicrylhydrazil* (DPPH). Larutan ekstrak sampel metanol dibuat dengan konsentrasi 100 ppm, kemudian diencerkan sampai dengan konsentrasi 50, 75, 100 ppm. Antioksidan vitamin E digunakan sebagai pembanding dengan membuat konsentrasi 100 ppm kemudian diencerkan hingga konsentrasi 50, 75, 100 ppm. Masing-masing sampel diukur pada panjang gelombang 519 nm menggunakan spektrofotometer.

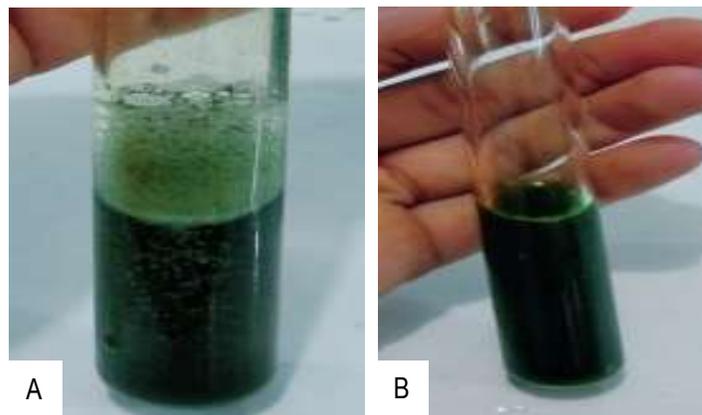
HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Sampel dan Ekstraksi Daun Lamun *T. hemprichii*

Sampel daun lamun yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan *blender* dengan tujuan untuk mempercepat pelarutan komponen bioaktif dan meningkatkan rendemen ekstraksi. Sumenda *et al.*, (2011), menyatakan bahwa tujuan dilakukan penghalusan untuk memudahkan proses ekstraksi. Makin halus serbuk simplisia proses ekstraksi makin efektif efisien (Novitasari dan Padmitasari, 2010). Rendemen sampel lamun *T. hemprichii* adalah 329 gr (10,96%), sedangkan rendemen ekstrak metanol sebesar 29,50 gr (0,98 %) dan ekstrak etil asetat sebesar 1,39 gr (0,05 %). Nilai berat ekstrak diperoleh dari hasil penimbangan wadah dengan mengurangi bobot awal wadah. Berdasarkan pelarut yang digunakan adalah metanol (polar) dan etil asetat (semi polar).

Senyawa Saponin Dengan Uji Buih dan Uji Warna

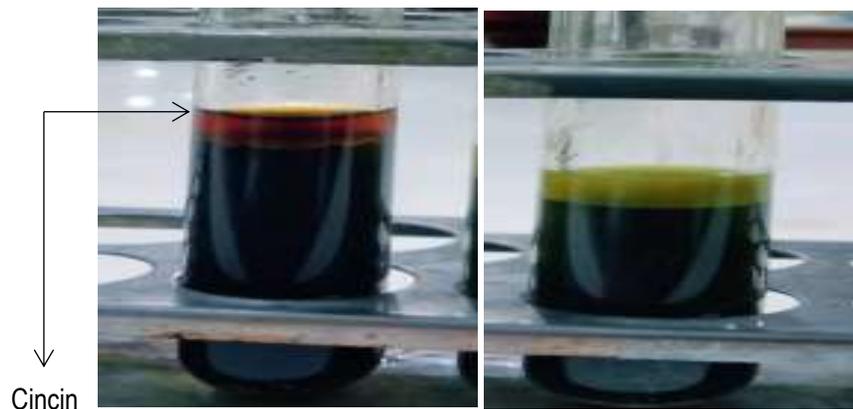
Identifikasi senyawa saponin bertujuan untuk melihat apakah terdapat senyawa saponin di dalam ekstrak sampel menggunakan pelarut metanol dan etil asetat. Berdasarkan pengujian identifikasi saponin dengan cara uji buih pada ekstrak metanol positif senyawa saponin sedangkan pada ekstrak etil asetat negatif senyawa saponin, hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya buih pada tabung reaksi yang berisi ekstrak metanol. Kumalasari dan Sulistyani (2011), menyatakan bahwa busa terbentuk karena saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Pada saat dikocok gugus hidrofilik akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk buih. Hasil identifikasi senyawa saponin dengan cara uji buih dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil identifikasi senyawa saponin dengan cara uji buih
(a) ekstrak metanol; (b) ekstrak etil asetat

Hasil identifikasi uji warna yang dilakukan pada masing-masing ekstrak sampel menunjukkan pada ekstrak metanol positif memiliki senyawa saponin triterpen, hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya cincin

warna coklat, sedangkan pada ekstrak etil asetat tidak mengandung senyawa saponin baik jenis triterpen maupun steroid karena tidak terbentuk cincin. Dalam uji warna digunakan kloroform sebagai pelarut serta asam asetat anhidrat dan asam sulfat (*Lieberman Burchard*) sebagai pereaksi. Menurut Bintoro *et al.*, (2017) dengan penambahan beberapa tetes pereaksi *Lieberman Burchard* (LB) jika terbentuk cincin coklat atau violet maka menunjukkan adanya saponin triterpen, sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid. Hasil identifikasi jenis saponin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil identifikasi jenis saponin dengan cara uji warna
(a) ekstrak metanol; (b)ekstrak eil asetat

Menurut Bintoro *dkk* (2017), Dengan penambahan beberapa tetes pereaksi *Lieberman Burchard* (LB), jika terbentuk cincin coklat atau violet maka menunjukkan adanya saponin triterpen, sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid.

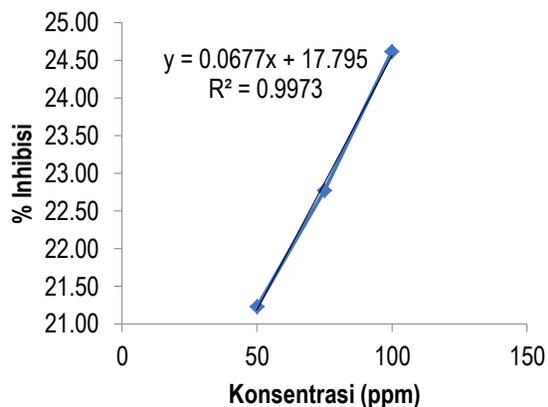
Kadar Saponin Metode Gravimetri

Metode gravimetri merupakan salah satu pengujian total senyawa saponin dengan cara menentukan penimbangan langsung total saponin pada kertas saring yang dipisahkan dari zat-zat lain. Ekstrak direfluks dengan 50 ml n-heksan pada suhu 60-80 °C selama 30 menit. Setelah dingin larutan n-heksan dibuang untuk menghilangkan senyawa nonpolar dan residu yang tertinggal dilarutkan dalam 50 ml etil asetat untuk menarik senyawa- senyawa semipolar. Residu yang tertinggal dilarutkan dengan n-butanol sebanyak 3 kali masing-masing dengan 50 ml. Seluruh larutan n-butanol dicampur dan diuapkan dengan penangas untuk memekatkan ekstrak yang diperoleh. Sisa penguapan dilarutkan dengan metanol 10 ml. Kemudian larutan ini ditetaskan kedalam 50 ml n-heksan sambil diaduk. Endapan yang terbentuk dalam campuran dituang pada kertas saring yang telah diketahui bobotnya untuk memudahkan dalam menghitung kadar saponin. Endapan di atas kertas saring dikeringkan kemudian ditimbang sampai bobot tetap.

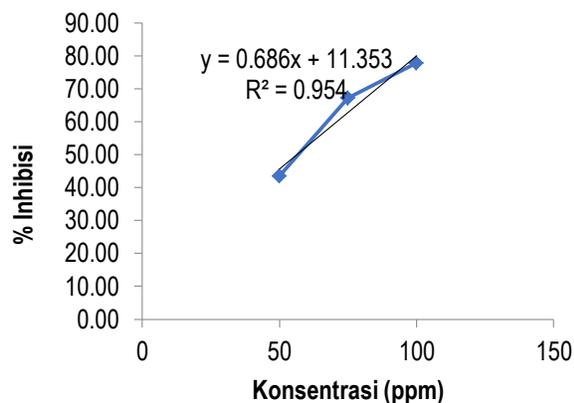
Kadar senyawa saponin daun lamun *T. hemprichii* pada ekstrak metanol dengan menggunakan metode gravimetri menghasilkan bobot senyawa saponin sebesar 12,63 %. Analisis kuantitatif digunakan metode gravimetri karena salah satu kelebihan metode tersebut yaitu tidak membutuhkan zat pembanding (saponin baku) dan merupakan cara analisis paling sederhana dibandingkan dengan cara analisis lainnya.

Aktifitas Antioksidan

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) karena merupakan metode yang sederhana, cepat, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Ghozaly dan Safitri, 2016). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 519 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum untuk DPPH. Antioksidan pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah Vitamin E dan Larutan sampel ekstrak metanol daun lamun *T. hemprichii*. Kurva persentase penghambatan radikal bebas disajikan pada Gambar 3 dan 4.



Gambar 3. Kurva aktivitas antioksidan vitamin E



Gambar 4. Kurva aktivitas antioksidan lamun

Sandhiutami dan Indrayani (2011) dalam penelitiannya menggunakan vitamin E sebagai pembanding dan hasil pengukuran antioksidan vitamin E menunjukkan bahwa vitamin E mempunyai nilai IC_{50} sebesar 8,27 mg/L yang memiliki kekuatan antioksidan sangat kuat. Izzati *et al.*, (2012) juga melakukan penelitian menggunakan vitamin E sebagai pembanding yang memiliki hasil IC_{50} sebesar 2,146 ppm atau 2,146 mg/L yang kekuatan antioksidan sangat kuat. Pada penelitian ini vitamin E memiliki IC_{50} sebesar 473,53 mg/L. dan ekstrak sampel metanol daun lamun *T. hemprichii* memiliki nilai IC_{50} sebesar 1,25 mg/L tergolong antioksidan sangat kuat. Puspasari *et al.*, (2017) ekstrak metanol lamun *C. rotundata*

menghasilkan senyawa antioksidan sebesar 42,5 ppm dengan kategori sangat kuat. Sami *et al.*, (2020) nilai IC₅₀ ekstrak lamun sebesar 38,008 µg/ml dengan katagori antioksidan sangat kuat. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC₅₀ bernilai 50-100 ppm, sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika nilai IC₅₀ bernilai 151-200 ppm. Aktivitas antioksidan tinggi pada daun lamun bermanfaat untuk mencegah stress oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas. Identifikasi dan uji aktivitas antioksidan pada lamun telah banyak dilakukan untuk mendapat sumber antioksidan alami yang diharapkan penggunaannya tidak menimbulkan efek samping.

SIMPULAN

Ekstrak metanol *Thalassia hemprichii* memiliki senyawa saponin, ekstrak etil asetat tidak terdeteksi memiliki senyawa saponin. Kadar senyawa saponin ekstrak metanol dengan menggunakan metode gravimetri sebesar 12,63 %. Niali aktivitas antioksidan IC₅₀ *T. hemprichii* sebesar 1,25 ppm atau 1,25 mg/L dengan kategori sangat kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Bintoro, A., Ibrahim, M. A., & Situmewang, B. 2017. Analisis dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Daun Bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal ITEKIMA*, 2(1), 84-94.
- Dewi, C. S.U., Soedharma, D., & Kawaroe M. 2012. Komponen Fitokimia dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Lamun *Enhalus Acoroides* dan *Thalassia Hemprichii* Dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*. 3(2), 23-27.
- Ghozaly, R., & Safitri, B. E. 2016. Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat dan Metanol Dari Varietas Umbi Wortel (*Daucus Carota* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil.) *jurnal Sainstech Farma*, 9(2), 13-18.
- Izzati, N. N., Diniatik, D., & Rahayu, W. S. 2012. Aktifitas Antioksidan Ekstrak Perasan Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Berdasarkan Metode DPPH (2,2 *Diphenyl-1-phyrcryl hydrazil*). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 9(3), .111-121.
- Labagu, R., Naiu, A. S., & Yusuf, N. 2022. Kadar Saponin Ekstrak Buah Mangrove (*Sonneratia alba*) Dan Daya Hambatnya Terhadap Radikal Bebas DPPH. *Jambura Fish Processing Journal*, 4(1), 1-11.
- Majinda, R.R. T. 2012. Extraction And Isolation Of Saponins. *Natural Products Isolation, Methods In Molecular Biology*, 864(1), 415-417.
- Mani, A. E., Velammal, A., & Jamila, P. 2012. Phytochemicals of The Seagrass *Syringodium Isoetifolium* and Its Antibacterial And Insecticidal Activities. *European Journal of Biological Sciences*, 4(3), 63-67.

- Mien, J. D., Carolin, A. W., & Firhani, A. P. 2015. Penetapan Kadar Saponin Pada Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansievera trifasciata Prainvarietas S. Laurentii*) Secara Gravimetri. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 2(2), 65-69.
- Puspasari, A. R., Dewi, E. N., Rianingsih, L. 2017. Aplikasi Antioksidan Dari Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Pada Minyak Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*). *Agritech*, 37(2), 115-120.
- Sami, F. J. U., Nur, S., Sapra, A., & Libertin. 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Lamun (*Enhalus acoroides*) Asal Pulau Lae-Lae Makassar Terhadap Radikal ABTS. *Media Kesehatan Politeknik Kesehatan Makassar*, 15(2), 116-120.
- Sumenda, L., Rampe, H. L., & Mantiri, F. R. 2011. Analisis Kandungan Klorofil Daun Mangga (*Mangifera indica*) Pada Tingkat Perkembangan Daun Yang Berbeda. *Jurnal Bioslogos*, 1(1), 20-24.
- Suwandi, R., Nurjanah., & Tias, F. N., 2010. Aktivitas Antioksidan Dan Komponen Bioaktif Dari Keong Pepaya (*Melo Sp.*) *Jurnal Sumberdaya Perairan*, 4(2). 16-20.
- Tristanto, R., Putri, M. A., Situmorang, A. P., & Suryati. 2014. Optimalisasi Pemanfaatan Daun Lamun *Thalassia hemprichii* Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Jurnal Saintek Perikanan*, 10(1), 26-29.
- Ulfa, F. S., Anggo, A. D., & Romadhon. 2014. Uji Potensi Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ekstraksi Bertingkat Pada Lamun Dugong (*Thalassia hemprichii*) dari Perairan Jepara. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(3), 32-39.
- Yunus, I., Sahami, M. F., & Hamzah, N. S. 2014. Ekosistem Lamun Di Perairan Teluk Tomini Kelurahan Leato Selatan Kota Gorontalo. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2(3), 102-106.