

## ANALISIS FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TERIPANG HITAM (*Holothuria atra*) DENGAN PELARUT BERBEDA

Muhammad Andika\*<sup>1</sup>, Lukman Mile<sup>1</sup>, Iin Susilawati Lantu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Kelautan dan Teknologi Perikanan, Universitas Negeri Gorontalo,  
Jl. Jend. Sudirman No.6, Dulalowo Timur, Kota Gorontalo, 96128 Gorontalo, Indonesia

Diterima Agustus 21-2025 ; Diterima setelah revisi Januari 10-2026 ; Disetujui Januari 24-2026

\*Korespondensi : [andikamuhammad2301@gmail.com](mailto:andikamuhammad2301@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis metabolit sekunder serta aktivitas antioksidan yang terdapat pada teripang hitam (*Holothuria atra*) yang ada di Desa Lamu. Tahapan penelitian terdiri dari pengambilan sampel, preparasi sampel, ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol (p.a), etil asetat (p.a) dan N-heksan (p.a) dengan perbandingan antara bahan dan pelarut adalah 1:20, untuk pengujian terdiri dari uji fitokimia dan pengujian aktivitas antioksidan. Analisis data terdiri dari analisis data deskriptif kualitatif dan deskriptif kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial berdasarkan perlakuan jenis pelarut berbeda yang terdiri atas 3 taraf perlakuan, yaitu M1 (ekstrak metanol), M2 (ekstrak etil asetat) dan M3 (ekstrak N-heksan). Data dianalisis menggunakan metode analisis ragam (ANOVA), jika berbeda nyata pada tiap perlakuan, maka diuji lanjut menggunakan BNJ. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak metanol, etil asetat dan N-heksan berturut-turut adalah 45%, 27,5%, dan 32,5%. Hasil uji fitokimia ekstrak sampel dari pelarut metanol teridentifikasi positif senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, saponin sedangkan ekstrak etil asetat teridentifikasi positif senyawa flavonoid, alkaloid sedangkan ekstrak N-heksan teridentifikasi positif senyawa alkaloid dan fenol. Hasil aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol sebesar 29,18 ppm (sangat kuat) sedangkan ekstrak etil asetat 76,67 mm (kuat) dan ekstrak N-heksan sebesar 68,81 mm (kuat).

**Kata Kunci:** *Holothuria atra*; (metanol, etil asetat dan N-heksan); Fitokimia, Antioksidan

### Pytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Black Sea Cucumber (*Holothuria atra*) Using Different Solvents

#### ABSTRACT

This study aims to analyze the secondary metabolites and antioxidant activity present in black sea cucumber (*Holothuria atra*) found in Lamu Village. The study stages include sample collection, sample preparation, and extraction through maceration using methanol (p.a), ethyl acetate (p.a), and N-hexane (p.a) solvents at a 1:20 ratio of material to solvent. The test include phytochemical screening and quantitative methods, applying a Completely Randomized Design (CRD) based on different solvents treatments with three levels: M1 (methanol extract), M2 (ethyl acetate extract), and M3 (N-hexane extract). The data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and the Honestly Significant Difference (HSD) test for significant differences between treatments. The results showed extraction yields of 45% for methanol, 27,5% for ethyl acetate, and 32,5% for N-hexane. Phytochemical tests identified flavonoids and alkaloids in the ethyl acetate extract, and alkaloids and phenols in the N-hexane extract. Antioxidant activity results indicated that the methanol extract

exhibited very strong activity (29,18 ppm). In comparison, the ethyl acetate and N-hexane extracts showed strong activity with values of 76,67 ppm and 68,81 ppm, respectively. was 1.871905 ppm. Antibacterial tests showed an inhibition zone of approximately 6 mm, indicating moderate antibacterial activity. These results suggest that ethanol extract of *A. marina* leaves contains triterpenoid compounds with potential as antibacterial agents. This study opens opportunities for further development of *A. marina*-derived triterpenoids in antimicrobial formulations.

**Keywords:** *Holothuria atra*; (methanol, ethyl acetate, and N-hexane); Phytochemical, Antioxidant

## PENDAHULUAN

Gorontalo adalah salah satu kawasan Teluk Tomini yang memiliki ekosistem lamun dan didalamnya terdapat teripang (*Holothuroidea*). Menurut Alawiyah *et al.*, (2016) teripang (*Holothuroidea*) adalah hewan invertebrata laut yang termasuk ke dalam filum Echinodermata yang merupakan hewan dengan pergerakan yang lambat, sehingga memerlukan mekanisme pertahanan diri. Mekanisme pertahanan diri teripang (*Holothuroidea*) terjadi secara mekanik dan kimiawi. Mekanisme pertahanan diri secara kimiawi dilakukan dengan menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Salah satu jenis teripang yang belum banyak dimanfaatkan adalah teripang hitam (*Holothuria atra*).

Teripang hitam (*Holothuria atra*) merupakan satu dari sekian banyak sumber daya perikanan yang mempunyai kandungan aktivitas senyawa bioaktif. Terdapat beberapa senyawa bioaktif dalam teripang diantaranya kandungan fenolik, flavonoid, dan steroid. Senyawa bioaktif yang terkandung ini memiliki nilai ekonomis dan berpotensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang biofarmasi diantaranya sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, serta berperan dalam pencegahan penyakit kronis. Menurut Avigail *et al.*, (2019) faktor yang berpengaruh terhadap kandungan senyawa bioaktif pada organisme diantaranya adalah kondisi lingkungan. Organisme yang hidup di habitat yang lebih mengancam seperti adanya gelombang besar, paparan sinar matahari, pencemaran dan lain lain memungkinkan suatu organisme tersebut menghasilkan metabolit sekunder untuk bertahan hidup sehingga memiliki potensi antioksidan yang lebih besar.

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan kimia untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Salah satu metode ekstraksi untuk menghasilkan ekstrak kasar dari suatu organisme adalah metode maserasi karena merupakan metode ekstraksi yang mudah dan sederhana (Mile *et al.*, 2021). Pelarut yang biasa digunakan adalah metanol, etanol, kloroform, n-heksan, eter, aseton, benzen, dan etil asetat (Azizy, 2021). Pemilihan pelarut juga harus menyesuaikan zat aktif yang dicari, di mana zat aktif yang bersifat

polar harus menggunakan pelarut yang bersifat polar pula agar komponen tersebut dapat membentuk larutan. Untuk itu pada penelitian ini Peneliti menggunakan tiga pelarut yang berbeda sifat kepolarannya yaitu metanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksan (non polar).

Setelah pengujian senyawa bioaktif dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan. Antioksidan menjadi salah satu senyawa yang mampu mencegah berbagai penyakit yang timbul dari radikal bebas. Radikal bebas adalah senyawa yang cukup reaktif, hal ini dikarenakan radikal bebas dapat dengan mudah bereaksi dengan cara mengoksidasi yang berakibat memicu pengaruh negatif pada tubuh antaranya menyebabkan kerusakan protein, DNA lipida hingga membran sel. Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH).

Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana dan cepat hanya memerlukan sedikit sampel 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. Penelitian tentang antioksidan teripang hitam telah dilakukan diantaranya Nurhamzah *et al.*, (2022) meneliti tentang setabilan pada ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) terhadap variasi suhu dengan durasi pemanasan dan (Bawole *et al.*, 2021) tentang aktivitas antioksidan pada ekstrak teripang (*Holothuria atra*) dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yang memperoleh hasil aktivitas antioksidan kuat.

Tujuan dari penelitian ini yakni menganalisis metabolit sekunder serta aktivitas antioksidan yang terdapat pada teripang hitam (*Holothuria atra*) yang ada pada Desa Lamu Manfaat penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan kepada Masyarakat tentang manfaat teripang untuk Kesehatan agar masyarakat dapat memanfaatkan teripang menjadi nilai ekonomis ataupun dapat digunakan sebagai bahan baku utama dalam sektor biofarmasi.

## **METODE PENELITIAN**

### ***Bahan dan Alat***

. Bahan yang dipakai antara lain ekstrak sampel teripang, reagen Dragendroff, reagen Meyer, reagen Liebarmann-Burchard, magnesium (Mg), FeCl<sub>3</sub> 5%, HCl dan air. Alat yang digunakan pada uji antioksidan yaitu spektrofotometer UV-Vis, inkubator, pipet tetes, neraca analitik, gelas arloji, penyaring buchner, shaker, desikator, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex, pipet ukur, beaker glass, dan labu ukur. Bahan yang digunakan adalah ekstrak sampel teripang, larutan DPPH, dan metanol.

Alat yang digunakan pada pengambilan sampel dan preparasi sampel yaitu pisau, box pendingin, masker selam, wadah atau loyang, timbangan, blender, dan *handphone*. Bahan yang digunakan yaitu teripang hitam yang di ambil dari perairan Desa Lamu dan air. Alat yang digunakan pada ekstraksi yaitu toples kaca, timbangan analitik, vacuum rotary evaporator juga kertas saring. Bahan yang digunakan yaitu serbuk teripang, metanol, etil asetat serta n-heksana. Alat yang dipakai pada pengujian fitokimia yaitu pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi juga lemari asam

### **Prosedur Penelitian**

Penelitian ini mencakup pengambilan sampel, preparasi sampel, ekstraksi sampel dengan metode maserasi, analisis fitokimia, dan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak halus teripang dengan memakai metode DPPH.

### **Pengambilan Sampel**

Sampel yang dipakai pada penelitian adalah teripang hitam (*Holothuria atra*) segar diambil dari perairan Gorontalo sebanyak 6 Kg. Setelah itu sampel teripang yang sudah ada, akan dimasukkan ke dalam box pendingin untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium perikanan. Selanjutnya, tubuh sampel akan dipotong secara melintang dengan menggunakan pisau, dimulai dari area bawah mulut hingga ke bagian ekor (Bawole *et al.*, 2021).

### **Preparasi Sampel**

Teripang segar dipotong-potong menjadi bagian yang lebih kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Potongan teripang kemudian dibersihkan secara menyeluruh dengan air mengalir sebelum dikeringkan secara alami di bawah sinar matahari hingga kadar airnya habis. Teripang kering yang telah dihaluskan kemudian disimpan dalam wadah kedap udara (Nurhamzah *et al.*, 2022).

### **Ekstraksi Sampel dengan Maserasi**

Proses ekstraksi pada teripang akan dilakukan dengan memakai metode maserasi menggunakan tiga pelarut yang beda, antara lain metanol p.a, etil asetat p.a, juga n-heksan p.a. Sampel teripang (*Holothuria atra*) ditimbang dengan berat 40 g selanjutnya direndam dengan pelarut metanol p.a (800 mL) dengan perbandingan 1:20 atau hingga sampel terendam penuh. Proses maserasi ini dilakukan dalam toples kaca yang disimpan di ruangan tanpa paparan cahaya. Proses maserasi berlangsung selama 3x24 jam. Setelah mendapatkan hasil dari maserasi maka selanjutnya rendaman akan disaring memakai kertas saring. Proses ekstraksi pada sampel teripang baru akan mengulang langkah-langkah yang sama seperti percobaan sebelumnya. Maserasi akan dilakukan menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksana, diikuti dengan

pemekatan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C untuk memperoleh ekstrak pekat (Nurhamzah *et al.*, 2022).

### **Uji Fitokimia**

Uji fitokimia dilakukan dalam penentuan senyawa bioaktif dalam teripang hitam (*Holothuria atra*). Uji fitokimia terdiri atas pengujian dalam senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid/steroid, fenol, dan saponin (Yuliana *et al.*, 2022).

### **Uji Antioksidan**

Ekstrak teripang (*Holothuria atra*) yang diperoleh menggunakan metanol, etil asetat, dan n-heksan masing-masing sebanyak 1 mL dengan konsentrasi 50, 40, 30, 20, dan 10 ppm. Konsentrasi pengenceran yang digunakan adalah 40, 80, 120, 160, dan 200 ppm. Selanjutnya, 3 mL larutan DPPH 0,5% ditambahkan ke setiap larutan ekstrak tersebut. Larutan DPPH disiapkan dengan cara menimbang 0,5 gram kristal DPPH dan melarutkannya dalam labu ukur 100 mL. Inkubasi dilakukan selama 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap. Setelah itu, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Nurhamzah *et al.*, 2022).

### **Analisis Data**

Analisis data pada penelitian ini terbagi menjadi dua yakni, pada pengujian fitokimia dianalisis menggunakan deskriptif kualitatif dan pada pengujian antioksidan dianalisis menggunakan deskriptif kuantitatif. Penelitian dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan uji Analysis of Variants (ANOVA) yang apabila terdapat perbedaan nyata ( $<0,05$ ) maka diuji lanjut menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Penelitian ini terdiri dari 1 perlakuan yaitu menggunakan pelarut yang berbeda dengan 3 taraf perlakuan yaitu metanol, etil asetat dan n-heksana serta dilakukan sebanyak 3 kali.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Kandungan Fitokimia**

Ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) dari pelarut metanol, etil asetat dan N-heksan yang didapat, diuji fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa aktif (metabolit sekunder) pada teripang hitam. Pengujian fitokimia yang di uji meliputi flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, saponin dan fenol. Hasil uji fitokimia dari ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) ditunjuk pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Dari Ekstrak Teripang Hitam (*Holothuria atra*)

Senyawa Fitokimia	Pereaksi	Pelarut			Keterangan
		Metanol	Etil Asetat	N-Heksan	
Flavonoid	Mg + HCl	+	+	-	Merah/jingga
Alkaloid	Dragendorff	+	+	+	Merah
Steroid	Liebermann-Burchard	-	-	-	Hijau
Triterpenoid	Liebermann-Burchard	+	-	-	Merah
Saponin	Air + HCl	+	-	-	Busa
Fenol	FeCl <sub>3</sub> 5%	-	-	+	Merah

Keterangan : (+) = memiliki senyawa aktif

(-) = tidak memiliki senyawa aktif

Tabel diatas menunjukkan adanya perbedaan hasil senyawa bioaktif ekstrak teripang hitam dari pelarut metanol (polar), etil asetat (semipolar) dan n-heksan (nonpolar). Analisis fitokimia mengungkapkan bahwa ekstrak teripang H. atra mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin pada ekstrak metanol, serta flavonoid dan alkaloid pada ekstrak etil asetat. Ekstrak n-heksan mengandung alkaloid dan fenol.

### **Flavonoid**

Hasil yang didapatkan dalam penelitian tentang ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) dari pelarut metanol dan etil asetat menunjukkan adanya kandungan flavonoid yang ditandai dengan munculnya warna merah atau jingga pada ekstrak sebagai hasil reaksi. Hal ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksil pada senyawa flavonoid, yang memudahkan senyawa tersebut larut dalam pelarut polar seperti metanol. Hal ini sesuai dengan pendapat Dwicahyani *et al.*, (2018), karena sifat polarnya, flavonoid mudah bercampur dengan pelarut organik polar seperti etanol. Hal ini menjadikan etanol sebagai pelarut yang efektif untuk mengekstrak flavonoid dari bahan alam.

### **Alkaloid**

Analisis fitokimia mengungkapkan adanya senyawa alkaloid dalam seluruh ekstrak yang diuji, ditandai dengan warna yang berubah menjadi merah saat dilakukan uji kualitatif alkaloid. Hal ini diduga karena senyawa alkaloid memiliki basa nitrogen, sehingga mudah larut dalam pelarut polar, semipolar, maupun non polar (Prasetyo *et al.*, 2015). Penelitian Hartati *et al.*, (2019) melaporkan bahwa senyawa

alkaloid mempunyai atom nitrogen serta pasangan elektron bebas, hingga mampu menghasilkan ikatan kovalen dengan ion logam yang dibuktikan melalui pembentukan endapan dengan bantuan pereaksi.

Senyawa alkaloid diuji menggunakan pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobimutat) pembentukan endapan berwarna jingga atau merah saat ditambahkan pereaksi *Dragendorff* mengindikasikan adanya atom nitrogen dalam senyawa yang mampu membentuk kompleks berwarna dengan ion logam kalium (K<sup>+</sup>) dalam pereaksi (Baidowi, 2017).

### **Steroid**

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel diatas, ekstrak teripang *H. atra* menggunakan pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksan memperoleh hasil negatif senyawa steroid. Hal ini terbukti pada saat pengujian steroid tidak terbentuk endapan berwarna merah atau hijau muda. Menurut Febrianto *et al.*, (2024) hasil uji fitokimia larutan metanol, etil asetat, dan n-heksan teripang *H. atra* pada pengujian senyawa bioaktif steroid/triterpenoid terbentuknya endapan berwarna merah atau hijau muda dalam tabung reaksi mengindikasikan hasil yang positif.

### **Triterpenoid**

Diketahui hasil uji fitokimia pada Tabel diatas, ekstrak teripang *H. atra* menggunakan pelarut metanol positif mengandung senyawa triterpenoid, sedangkan ekstrak teripang *H. atra* menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan memperoleh hasil negatif senyawa triterpenoid. Sampel yang mengandung senyawa triterpenoid dibuktikan dengan terbentuknya endapan berwarna merah saat ditambahkan reagen Lieberman-Burchard. Hal ini sejalan dengan penelitian Febrianto *et al.*, (2024) dengan memperoleh hasil positif pada uji fitokimia senyawa bioaktif steroid/triterpenoid dengan larutan metanol teripang *H. atra* dengan ditandai terbentuknya endapan berwarna merah atau hijau muda pada tabung reaksi.

### **Saponin**

Ekstrak teripang *H. atra* menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan memperoleh hasil negatif senyawa saponin karena setelah ditambahkan air dan HCl tidak terbentuk busa pada sampel. Sedangkan ekstrak teripang *H. atra* menggunakan pelarut metanol terbukti positif mengandung senyawa saponin, karena pada proses pengujian terbentuk busa yang stabil pada tabung reaksi. Septiadi *et al.*, (2013) menyatakan bahwa terbentuknya buih atau busa dalam uji saponin menunjukkan adanya reaksi antara saponin dengan air, yang merupakan senyawa polar.

### **Fenol**

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak teripang *H. atra* menggunakan pelarut metanol dan etil asetat memperoleh hasil negatif fenol, sedangkan ekstrak teripang *H. atra* menggunakan pelarut n-heksan hasil

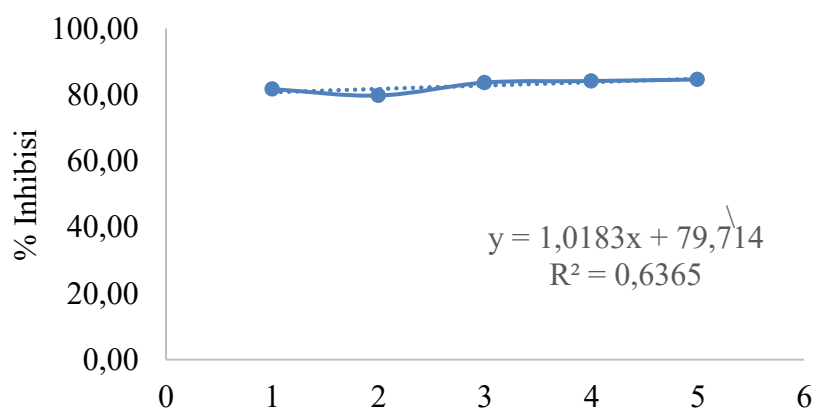
yang ditunjukkan positif fenol dengan tanda pada perubahan warna menjadi merah. Menurut Wardhani *et al.*, (2018), hasil positif adanya senyawa fenol ditandai dengan hasil positif berupa terbentuknya warna seperti hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman.

### Nilai Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) dengan pelarut metanol, etil asetat dan N-heksan metode DPPH dipilih karena kesederhanaannya, kecepatan, dan kemudahan dalam mengidentifikasi aktivitas penangkapan radikal dari berbagai senyawa, dengan hasil yang terbukti akurat (Badarinath *et al.*, 2010). Kemampuan ekstrak dalam menangkap Aktivitas antioksidan dapat diamati secara visual melalui perubahan warna larutan DPPH. Awalnya, larutan DPPH berwarna ungu khas. Namun, ketika berinteraksi dengan senyawa antioksidan, warna ungu ini akan memudar dan berubah menjadi kuning.

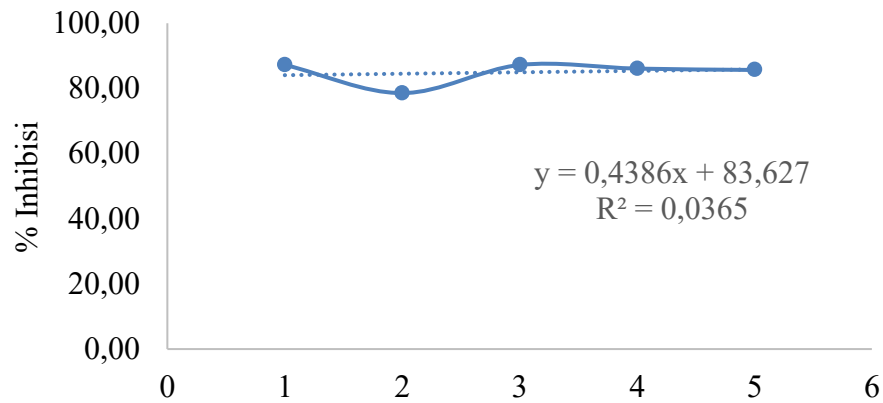
Penelitian ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm pada panjang gelombang 517 nm. Bahriul *et al.*, (2014) untuk mengukur kemampuan antioksidan, dilakukan analisis spektrofotometri UV-Vis dengan gelombang sepanjang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang di mana radikal DPPH menunjukkan serapan maksimum. Pada panjang gelombang ini, larutan uji menyerap cahaya secara optimal, sehingga memberikan tingkat kepekaan yang paling tinggi.

Persentase aktivitas antioksidan dapat ditentukan menggunakan satuan % inhibisi. Hal ini sejalan oleh hasil penelitian Huselan *et al.*, (2015) persentase penghambatan reaksi oksidasi digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan suatu senyawa. Kemudian, persentase inhibisi digunakan untuk memperoleh IC50 (Hasanah *et al.*, 2017). Nilai grafik % inhibisi pelarut metanol dapat dilihat pada Gambar 1, pelarut etil asetat pada Gambar 2 dan pelarut n-heksan pada Gambar 3.



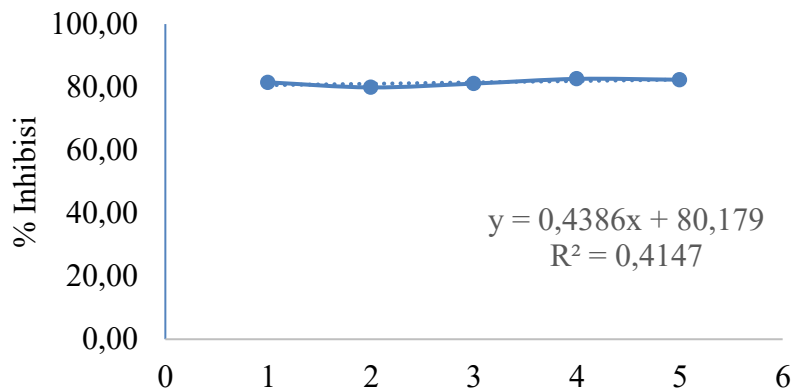
Gambar 1. Hasil Absorbansi dengan Pelarut Metanol

Berdasarkan grafik pada Gambar 1 diatas absorbansi dari antioksidan dengan 3 kali ulangan mendapatkan hasil rata-rata untuk konsentrasi 10 ppm sebesar 0,112; 20 ppm sebesar 0,187; 30 ppm sebesar 0,112; 40 ppm sebesar 0,122; 50 ppm sebesar 0,125 dengan nilai  $Y = 1,0183x + 79,714$  dengan nilai  $R^2$  0,6365 yang mendapatkan hasil IC50 sebesar 29,18. Artinya ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) dengan pelarut metanol menghasilkan antioksidan yang sangat kuat.



Gambar 2. Hasil Absorbansi dengan Pelarut Etil Asetat

Berdasarkan grafik pada Gambar 2 absorbansi dari antioksidan dengan 3 kali ulangan mendapatkan hasil rata-rata untuk konsentrasi 10 ppm sebesar 0,160; 20 ppm sebesar 0,177; 30 ppm sebesar 0,143; 40 ppm sebesar 0,139; 50 ppm sebesar 0,135 dengan nilai  $Y = 0,4386x + 83,627$  dengan nilai  $R^2$  0,0365 yang mendapatkan hasil IC<sub>50</sub> sebesar 76,67. Artinya ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) dengan pelarut etil asetat menghasilkan antioksidan yang kuat.



Gambar 3 Hasil Absorbansi dengan Pelarut N-heksan

Berdasarkan grafik pada Gambar 3 absorbansi dari antioksidan dengan 3 kali ulangan mendapatkan hasil rata-rata untuk konsentrasi 10 ppm sebesar 0,162; 20 ppm sebesar 0,176; 30 ppm sebesar 0,165; 40

ppm sebesar 0,152; 50 ppm sebesar 0,154 dengan nilai  $Y = 0,4386x + 80,179$  dengan nilai  $R^2$  0,4147 yang mendapatkan hasil  $IC_{50}$  sebesar 68,681. Artinya ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) dengan pelarut n-heksan menghasilkan antioksidan yang kuat.

Adapun cara untuk menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu dengan menggunakan parameter  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration 50%*).  $IC_{50}$  adalah parameter yang digunakan untuk mengukur kemampuan suatu senyawa dalam menetralkan radikal bebas DPPH hingga setengahnya (Laksono *et al.*, 2023). Hasil  $IC_{50}$  antioksidan dari setiap pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Nilai  $IC_{50}$  Antioksidan Teripang Hitam (*Holothuria atra*)

Jenis Pelarut	$IC_{50}$ (ppm)	Keterangan
Metanol	29,18	Sangat Kuat
Etil asetat	76,67	Kuat
N-Heksan	68,81	Kuat

Data diatas memperlihatkan bahwa ekstrak metanol teripang hitam membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghambat radikal bebas dibandingkan dengan ekstrak yang menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan. Hasil penghitungan menunjukkan  $IC_{50}$  ekstrak metanol teripang hitam sebesar 29,18 ppm dengan kategori aktivitas antioksidan sangat kuat, sedangkan  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat teripang hitam 76,67 ppm, dan  $IC_{50}$  n-heksan 68,81 ppm dengan kategori aktivitas antioksidan kuat. Menurut Molyneux, (2004) sifat antioksidan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yaitu 50 ppm < (sangat kuat), 50 ppm-100 ppm (kuat) 100 ppm-150 ppm sedang, 150 ppm -200 ppm (lemah).

$IC_{50}$  menunjukkan efisiensi suatu antioksidan dalam menetralkan radikal bebas. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$ , semakin efektif antioksidan tersebut bekerja (Ardiansyah, 2016). Di antara berbagai pelarut yang digunakan, ekstrak metanol teripang hitam (*H. atra*) terbukti memiliki aktivitas antioksidan paling kuat. Kekayaan senyawa fitokimia seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin dalam ekstrak metanol berkontribusi signifikan terhadap kemampuannya dalam menangkal radikal bebas. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sari *et al.*, (2021) hasil penelitian ini mengkonfirmasi bahwa flavonoid dalam sampel memiliki potensi sebagai antioksidan yang efektif, bekerja dengan cara mendonorkan ion hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas yang tidak stabil.

Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak *H. atra* dengan pelarut etil asetat dan n-heksan memiliki perbedaan aktivitas antioksidan yang kecil. Secara berturut-turut, pelarut etil asetat dan n-heksan

menunjukkan nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar 76,67 ppm dan 68,81 ppm dan keduanya termasuk dalam aktivitas antioksidan yang kuat. Kedua pelarut ini terdeteksi mengandung senyawa bioaktif jenis alkaloid, sedangkan pelarut etil asetat juga memiliki senyawa flavonoid dan pelarut n-heksan mengandung senyawa fenol. Baik senyawa flavonoid maupun fenol mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat sebab keduanya termasuk dalam kelompok polifenol. Hal ini sejalan dengan studi sebelumnya Illing *et al.*, (2017) flavonoid adalah senyawa polifenol yang secara struktural diturunkan dari senyawa aromatik flavan atau 2-fenilbenzopiran. Dikenal sebagai polifenol, senyawa ini merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang memiliki karakteristik unik, yaitu keberadaan beberapa gugus hidroksil pada struktur aromatiknya. Polifenol terbentuk melalui jalur metabolisme asam sikimat dan fenilpropanoid, dan diklasifikasikan menjadi berbagai jenis berdasarkan struktur kimianya, termasuk fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tannin, dan flavonoid yang paling umum.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak teripang hitam (*Holothuria atra*) di Perairan Lamu menggunakan pelarut metanol memiliki senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid, juga saponin. Ekstrak pelarut etil asetat diketahui positif mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid. Ekstrak pelarut n-heksan diketahui mengandung senyawa alkaloid dan fenol. Aktivitas antioksidan teripang hitam (*Holothuria atra*) dengan pelarut metanol memiliki nilai  $IC_{50}$  29,18 ppm dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat, serta pada pelarut etil asetat dan n-heksan memiliki nilai  $IC_{50}$  secara berturut-turut 76,67 ppm dan 68,81 ppm dikategorikan sebagai antioksidan kuat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, T., Khotimah, S., & Mulyadi, A. (2016). Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Darah (*Holothuria atra* Jeager.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Malassezia furfur* Penyebab Panu. *Jurnal Protobiont*, 5(1), 59–67. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jprb/article/view/14897>
- Ardiansyah, A. (2016). Ekstraksi dan Formulasi Suspensi Oral Teripang *Holothuria scabra* sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Oseanologi Dan Limnologi Indonesia*, 1(1), 29–37.
- Avigail, Y., Yudiati, E., & Pringgenies, D. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Pada Teripang di Perairan Karimunjawa, Jepara. *Journal of Marine Research*, 8(4), 346–354. <https://doi.org/10.14710/jmr.v8i4.24600>
- Azizy, Z. A. B. (2021). Optimasi Proses Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tanaman Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Secara Microwave-Assisted Extraction. In *Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar*.

- Badarinath, A. V, Rao, K. M., Madhu, C., Chetty, S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., & Gnanaprakash, K. (2010). A Review On In-Vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1276–1285.
- Bahriul, P., Rahman, N., & Diah, A. W. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Menggunakan DPPH. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 143–149.
- Bawole, A. S. W., Wewengkang, D. S., & Antasionasti, I. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teripang (*H. atra*) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Pharmakon*, 10(2), 863. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.34036>
- Dwicahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria Atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 1–24.
- Febrianto, F., Asnani, & Haslianti. (2024). Komposisi Proksimat, Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Teripang Hitam (*Holothuria atra*) Asal Perairan Desa Malalanda, Kabupaten Buton Utara. *Journal Fish Protech*, 7(1), 68–74.
- Hartati, Syamsuddin, B., & Karim, H. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder *Klika Kayu Jawa (Lannea coromandelica)*. *Jurnal Sainsmat*, 8(2), 19–27.
- Hasanah, M., Maharani, B., & Munarsih, E. (2017). Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 42–49.
- Huselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J., & Wewengkang, D. S. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-heksan Dari Daun *Sesewanua (Clerodendron squamatum Vahl.)*. *Pharmakon*, 4(3), 155–163.
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Degen. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Laksono, B. A., Ariqoh, N., Arsyah, T. A., Alya, E., Evi, H., Wiela, E., Rakhmawati, H. R., Cahyani, C. D., Najwa, H., Adyatama, A. Y., Septiyani, D., Rachman, Z. I., Kirana, A. R. M., Purnomo, A. T., & Sari, R. (2023). Evaluation of Oral Preparations of Vitamin E as Antioxidant Using DPPH Method (Diphenyl picrylhydrazyl). *Jurnal Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 10(1), 13–17. <https://doi.org/10.20473/bikfar.v10i1.47115>
- Mile, L., Nursyam, H., Setijawati, D., & Sulistiyati, TD (2021). Studi fitokimia buah mangrove (*Rhizophora mucronata*) di desa langge kabupaten gorontalo utara. *Jurnal Pengolahan Ikan Jambura*, 3 (1), 1-8.
- Nurhamzah, L. Y., Agustin, T. W., & Fahmi, A. S. (2022). Stabilitas Antioksidan Ekstrak Teripang Hitam (*Holothuria Atra*) Terhadap Suhu Dan Lama Pemanasan. *Nutrition Scientific Journal*, 1(1), 8–20. <https://doi.org/10.37058/nsj.v1i1.5897>.
- Prasetyo, S., Arfianto, W., & Hudaya, T. (2015). The Pre-chromatography Purification of Crude Oleoresin of *Phaleria Macrocarpa* Fruit Extracts by Using 70 % -v Iv Ethanol. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan," ISSN 1693-*, 1–8.
- Sari, Y., Syahrul, & Iriani, D. (2021). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Pada Kijing (*Pilsbryconcha* sp.) Dengan Pelarut Berbeda. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 13(1), 16–20.

- Septiadi, T., Pringgenies, D., & Radjasa, O. K. (2013). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Keling (*Holothuria atra*) Dari Pantai Bandengan Jepara Terhadap Jamur *Candida albicans* : 2, 76–84.
- Wardhani, R. R. A. A. K., Akhyar, O., & Prasiska, E. (2018). Skrining Fitokimia, Aktivitas Antioksidan, dan Kadar Total Fenol-Flavonoid Ekstrak Daun dan Buah Tanaman Galam Rawa Gambut (*Melaleuca cajuputi* ROXB). *Jurnal Inovasi Pendidikan Sains*, 9(2), 133–143.
- Yuliana, W., Idiawati, N., & Imam Prayitno, D. (2022). Pigment screening, phytochemical test, and cytotoxicity testing of the ethanol extract of *Holothuria atra* sea cucumber from Lemukutan island waters. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 18(1), 34–44. <https://doi.org/10.20885/jif.vol18.iss1.art4>