

**PENENTUAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN DAN KANDUNGAN FENOLIK TOTAL
EKSTRAK KASAR TERIPANG PASIR (*Holothuriscabra*) DARI PANTAI
KENJERAN SURABAYA**

Juliyantoro Ali Wafa, Tri Kustono Adi, Ahmad Hanapi, A. Ghanaim Fasya

Jurusan Kimia, Fakultas Saind dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

The antioxidant capacity and total phenolic compounds content of sea cucumber (*Holothuriscabra*) crude extract from Kenjeran, Surabaya was analysed. The crude extract was obtained by maceration-partition using methanol and *n*-hexane. The total antioxidant capacity of both methanol and *n*-hexane crude extract was estimated by DPPH assay while the total phenolic was measured by Folin-Ciocalteu assay. Phytochemical reagent assay and Thin Layer Chromatography (TLC) were also applied for early identification and separation of the unknown compound of both extract.

The result showed that the methanol and *n*-hexane extracts have antioxidant capacity of 78.92% and 94.82%. Total phenolic content of methanol and *n*-hexane extracts were obtained as 69.09 mg GAE/g and 58.01 mg GAE/g. Early identification of the crude extracts showed the presence of triterpenoid group in methanol extract and saponin group in *n*-hexane extract. The TLC on the methanol extract using *n*-butanol:NH₄OH (4:1) generated four spots.

Keywords: *Holothuriscabra*, DPPH, Total Phenolics, Antioxidant, TLC

ABSTRAK

Kapasitas antioksidan dan fenolik total ekstrak teripang pasir (*Holothuriscabra*) dari Pantai Kenjeran, Surabaya telah dianalisis. Ekstrak kasar diperoleh dengan maserasi-partisi menggunakan metanol dan *n*-heksana. Penentuan kapasitas antioksidan dari kedua ekstrak kasar metanol dan *n*-heksana dilakukan menggunakan uji DPPH, sedangkan fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Uji reagen dan Kromatografi Lapisan Tipis (KLT) juga dilakukan untuk identifikasi awal dan pemisahan senyawa yang tidak diketahui dari ekstrak keduanya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan *n*-heksana memiliki kapasitas antioksidan 78,92% dan 94,82%. Fenolik total ekstrak metanol dan *n*-heksana yang diperoleh sebesar 69,09 mg EAG/g sampel dan 58.01 mg EAG/g sampel. Identifikasi awal dari ekstrak kasar menunjukkan adanya senyawa triterpenoid pada ekstrak metanol dan senyawa saponin pada ekstrak *n*-heksana. KLT pada ekstrak metanol menggunakan *n*-butanol:NH₄OH (4:1) diperoleh empat spot.

Kata Kunci: *Holothuria scabra*, DPPH, Fenolik Total, Antioksidan, KLT

I. PENDAHULUAN

Laut Indonesia terdiri atas 3,2 juta km² laut teritorial dan 2,9 juta km² perairan ZEE (Zona Ekonomi Eksklusif). Wilayah perairan 6,1 juta km² tersebut adalah 77 % dari seluruh luas Indonesia (Pokja, Kadin, & Batam, 2004). Laut mampu meningkatkan keunggulan komparatif bangsa dilihat dari segi luas dan keanekaragaman hayatinya. Salah satu biota laut yang berpotensi menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan adalah teripang pasir. Matranga (2005)

menyatakan bahwa teripang pasir sudah ratusan tahun digunakan sebagai obat-obatan di Cina dan diyakini mampu menyembuhkan berbagai jenis penyakit.

Teripang pasir dapat ditemukan hampir di seluruh perairan pantai, mulai daerah pasang surut yang dangkal sampai perairan yang lebih dalam. Menurut Sateni (2012), teripang pasir hidup di dasar substrat pasir, lumpur pasir, atau dalam lingkungan terumbu, dengan pergerakan yang lambat. Di pantai Kenjeran Surabaya, teripang pasir sering diolah menjadi makanan kerupuk. Harga teripang pasir

sendiri setelah diolah menjadi kerupuk sekitar Rp.150.000,-/kg dibandingkan harga sebelum diolah yaitu sekitar Rp.5.000,-/kg. Oleh karena itu, masyarakat Kenjeran Surabaya lebih suka menjual teripang pasir dalam bentuk kerupuk teripang pasir. Nurhidayati (2009), Teripang pasir (*Holothuria scabra*) diduga mengandung senyawa yang bersifat antioksidan yaitu vitamin A, C, dan E, senyawa flavonoid dan polifenol, DHA, EPA, dan kondroitin sulfat. Senyawa-senyawa ini sangat potensial dalam meredam radikal bebas dalam tubuh. Selain itu, teripang pasir juga diduga senyawa antiinflamasi yaitu DHA dan EPA, dan kondroitin sulfat, sehingga bila telah terjadi kerusakan sel akibat radikal bebas, kerusakan yang lebih parah dapat dihindari.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik dan kapasitas antioksidan ekstrak teripang pasir dari pantai Kenjeran Surabaya, yang diekstrak dengan dua jenis pelarut, yaitu metanol dan *n*-heksana hasil destilasi. Hasil dari penelitian ini nantinya diaplikasikan sebagai sumber senyawa antioksidan.

II. METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang pasir (*Holothuriascabra*) yang diperoleh dari pantai Kenjeran Surabaya.

Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan pada bagian tubuh teripang pasir. Sebelumnya cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam *vacumdesikator* sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel teripang pasirbasah dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui berat konstan. Sampel yang sudah dipotong kecil-kecil

diambil 5 gram dan dikeringkan ke dalam oven pada suhu 100-105°C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar air dalam tubuh teripang pasir, kemudian sampel disimpan dalam *vacumdesikator* selama 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven 15 menit, didinginkan dalam *vacumdesikator* dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan.

Uji Kadar Garam

Teripang pasir basah ditimbang sebanyak 10 gram. Diekstrak menggunakan aquades panas 100 mL, didiamkan selama ± 1 menit, kemudian disaring dengan kertas saring. Hasil yang diperoleh diteteskan pada prisma pembaca pada salinometer ATAGO PAL-06. Garam dalam larutan tersebut diukur sebagai konsentrasi kepekatan %.

Preparasi Sampel

Teripang pasir diambil seluruh tubuhnya ± 500 gram, kemudian dicuci, diiris kecil-kecil, selanjutnya diblender.

Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak teripang pasir menggunakan dua macam ekstraksi yaitu ekstraksi maserasi dilanjutkan dengan ekstraksi cair-cair. Langkah pertama, teripang pasir diekstraksi maserasi, teripang pasir ditimbang 150 gram, kemudian direndam dalam metanol : aquades (9:1) sebanyak 300 mL selama 24 jam dan di *shaker* selama 5 jam dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, ampas direndam kembali sampai filtrat yang didapat bening. Filtrat disaring dari ampasnya menggunakan *vacum buchner*, filtrat yang diperoleh digabungkan, kemudian di *rotary evaporator* dan diuapkan sisa pelarutnya menggunakan N_2 . Selanjutnya ekstrak yang diperoleh dihitung rendemennya.

Ekstrak pekat yang diperoleh dilakukan pemisahan senyawa aktifnya berdasarkan kepolarannya menggunakan ekstraksi cair-cair, dengan dua pelarut yang berbeda yaitu metanol dan *n*-heksana (1:1)

sebanyak 150 mL masing-masing sebagai pelarut polar dan nonpolar. Filtrat yang diperoleh dirotary evaporator, kemudian ekstrak yang diperoleh diuapkan sisa pelarutnya menggunakan gas N₂. Rendemen dari masing-masing ekstrak dihitung.

Ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi diuji kapasitas antioksidan dan fenolik totalnya untuk mengetahui ekstrak yang mengandung kapasitas antioksidan dan fenolik total tertinggi.

Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 3 mL, didiamkan ± 10 menit. Larutan dicari λ_{maks} nya dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Rahayu, dkk, 2010).

2. Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Larutan ekstrak 200 ppm diambil sebanyak 6,75 mL, ditambahkan sebanyak 2,25 mL larutan DPPH 0,2 mM, kemudian dicari waktu kestabilan tanpa inkubasi dan setelah inkubasi dengan interval 5 menit sampai waktu yang diperoleh stabil. Sampel diukur pada λ_{maks} dan waktu kestabilan yang telah diperoleh.

3. Pengukuran Kapasitas Antioksidan Pada Sampel

Sampel ekstrak pekat metanol dan *n*-heksana masing-masing dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm. Kemudian tiap-tiap konsentrasi diambil 2,25 mL dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 0,75 mL (larutan DPPH : Ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Diinkubasi suhu 37°C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet untuk mengukur absorbansinya pada λ_{maks} . Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai % kapasitas antioksidan.

Nilai tersebut diperoleh dengan rumus (Arindah, 2010) :

$$\% \text{ Kapasitas antioksidan} = \frac{A_0 - A_c}{A_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

A₀ = Absorbansi kontrol

A_c = Absorbansi sampel

Setelah didapatkan nilai % kapasitas antioksidan sampel, selanjutnya dibandingkan kapasitasnya dengan pembanding (Vitamin C dan BHT).

Kontrol yang digunakan hanya larutan DPPH 0,2 mM tanpa penambahan sampel tetapi pembuatannya bersamaan dengan pembuatan sampel. Pembanding dibuat dengan cara yang sama tetapi sampel diganti dengan asam askorbat (Vitamin C) dan BHT. Apabila % kapasitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai kapasitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan (Yuliani, 2010).

Uji Kadar Fenolik Total

1. Penentuan Konsentrasi Standar dan Waktu Kestabilan Fenolik Total

Asam galat dilarutkan dalam buffer fosfat dengan konsentrasi 0, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 dan 2000 ppm, kemudian dicari waktu kestabilan pengukuran fenolik pada rentangan 0-130 menit interval 10 menit. Sampel diukur pada panjang gelombang 655 nm menggunakan blanko buffer fosfat. Sampel diukur dengan dua alat yang berbeda yaitu menggunakan spektrofotometer UV-Vis Varian dan Spektrofotometer Elisa.

2. Pembuatan Larutan Standar

Asam galat dilarutkan dalam buffer fosfat dengan konsentrasi optimum, kemudian diinkubasi selama waktu optimum dari penentuan konsentrasi dan waktu kestabilan di atas. Standar diukur dengan panjang gelombang 655 nm menggunakan buffer fosfat sebagai blankonya.

3. Pengukuran Kadar Fenolik Total

Kandungan total fenol diukur dengan uji Folin-Ciocalteu menggunakan asam galat sebagai standar. Sampel ekstrak kasar metanoldan *n*-heksana masing-masing dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi 75, 150, 300, 600, 800, dan 1000 ppm. Ekstrak diambil 50 µL dari tiap-tiap konsentrasi, ditambahkan aquades (3 mL), 250 µL larutan Folin-Ciocalteu dan 7 % NaCO₃ (750 µL) divortex dan diinkubasikan selama 8 menit pada suhu kamar. Langkah selanjutnya adalah penambahan 950 µL aquades. Larutan didiamkan selama 80 menit pada suhu ruang. Diukur nilai absorbansi menggunakan panjang gelombang 655 nm. Kandungan total fenol dinyatakan dengan ekuivalen asam galat (mg EAG/g sampel). Kandungan fenolik total yang tertinggi dan hasil uji reagen yang positif dilakukan pemisahan senyawa aktif dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan eluen terbaik.

Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen

Ekstrak teripang pasir diuji kandungan senyawa aktifnya menggunakan uji reagen (uji fitokimia) sehingga diketahui hasilnya secara kualitatif. Uji reagen diantaranya yaitu uji alkaloid, flavonoid, saponin dan triterpenoid/steroid (Indrayani dkk, 2006).

Uji Alkaloid

Ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

Uji Flavonoid

Ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl

pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid.

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.

Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform kemudian ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya 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.

Pemisahan Kandungan Senyawa Aktif Menggunakan KLT

Identifikasi dengan KLT menggunakan plat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diamnya. Masing-masing plat disiapkan dengan ukuran 1x10 cm setelah diaktivasi selama ± 15 menit dalam oven suhu 100 °C. Ekstrak teripang pasir ditotolkan pada jarak ±1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler, kemudian dikeringkan plat silika gel dan ditotolkan kembali ekstrak teripang pasir dengan menggunakan pipa kapiler sebanyak 1 mL. Perlakuan ini dihentikan sampai dirasa sudah cukup. Kemudian hasil penotolan akan dielusi dengan menggunakan eluen atau fase gerak seperti yang ditunjukkan pada lampiran 1. Setelah gerakan fase gerak sampai pada garis batas, elusi dapat dihentikan.

Noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diamati masing-masing hasil nodanya. Bercak noda yang dihasilkan pada masing-

masing plat KLT selanjutnya dihitung nilai Rf-nya.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kadar Air

Hasil uji kadar air teripang pasir diperoleh sebesar 79,97 %. Uji kadar air ini dilakukan untuk acuan penambahan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi maserasi. Tingginya kadar air pada sampel (79,97 %) menyebabkan daya simpan sampel menjadi rendah. Jika sampel segar disimpan dalam waktu lama kemungkinan sampel akan ditumbuhi jamur atau mikroba yang dapat berpengaruh terhadap senyawa aktif dari sampel.

Analisis Kadar Garam

Hasil pengukuran kadar garam teripang pasir diperoleh sebesar 15,45 %. Tujuan dari uji kadar garam ini sebagai informasi tambahan untuk pengaruh hasil rendemen yang diperoleh.

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*) masih segar yang diperoleh dari Pantai Kenjeran Surabaya. Sampel teripang pasir dicuci sampai bersih kemudian dihaluskan dengan blender bertujuan untuk memperluas permukaan sampel agar memudahkan kontak antara pelarut dengan sampel pada saat ekstraksi maserasi.

Ekstraksi Sampel

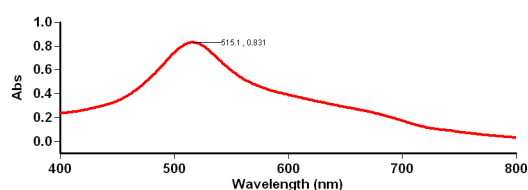
Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini untuk mengekstrak teripang pasir menggunakan ekstraksi maserasi dan dilanjutkan dengan ekstraksi partisi (ekstraksi cair-cair).

Rendemen hasil ekstraksi pada penelitian ini masing-masing yaitu metanol (11,28 %) dan *n*-heksana (1,38 %).

Uji Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrasil)

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Langkah awal yang dilakukan dalam pengujian dengan metode DPPH yaitu menentukan panjang gelombang maksimum dari DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penentuan panjang gelombang DPPH 0,2 mM diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 515 nm. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH adalah sebagai berikut :



Gambar 1 Spektra UV-Vis larutan DPPH dalam etanol

2. Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Penentuan waktu kestabilan ini bertujuan untuk mengetahui waktu kestabilan reaksi antara DPPH dengan sampel antioksidan yang digunakan. Pengukuran waktu kestabilan ini dilakukan dengan dua cara, yaitu larutan diinkubasi pada suhu ruang (25–27°C) dan larutan diinkubasi pada suhu 37°C dilakukan sampai larutan stabil dengan interval 5 menit. Hasil penentuan waktu kestabilan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Sampel	Waktu Kestabilan (menit)	
	Inkubasi pada Suhu 37°C	Inkubasi pada Suhu 25 – 27 °C
Fraksi metanol	25 - 70	30 - 45
Fraksi <i>n</i> -heksana	80 - 100	85 - 90
Vitamin C	20 - 50	25 - 35
BHT	80 - 120	85 - 100

Berdasarkan Tabel 1 dapat dijelaskan bahwa pengujian antioksidan sangat baik jika menggunakan inkubasi pada suhu

37°C, karena cenderung menghasilkan absorbansi yang tidak jauh berbeda dan lama. Berbeda dengan absorbansi sampel pada suhu ruang (25–27°C) yang cenderung berubah dan kurang stabil pada rentang waktu yang berbeda. Diduga suhu yang telah terkondisikan dapat mempercepat berlangsungnya reaksi antara radikal DPPH dan senyawa antioksidan.

3. Pengukuran Kapasitas Antioksidan Sampel dengan Metode DPPH

Data % kapasitas antioksidan ekstrak teripang pasir serta pembanding BHT dan asam askorbat ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil pengukuran % kapasitas antioksidan ekstrak teripang pasir

Konsentrasi Sampel (ppm)	% Kapasitas Antioksidan (Y)			
	Ekstrak metanol	Ekstrak <i>n</i> -heksana	BHT	Asam askorbat
1	76,61	94,82	76,04	80,10
5	77,07	94,51	76,65	90,45
10	77,24	94,68	81,47	98,92
25	76,82	94,33	85,71	99,21
50	78,02	94,01	93,73	99,22
100	78,33	93,63	95,87	99,23
200	78,83	90,46	98,87	99,24
400	79,82	75,20	99,09	99,26

Berdasarkan data pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa ekstrak metanol mempunyai aktivitas antioksidan yang sedang, hal ini ditunjukkan dengan kemampuan ekstrak methanol dalam menghambat perkembangan radikal bebas sebesar 79,82%. Sedangkan ekstrak *n*-heksana mempunyai aktivitas sangat kuat, karena mampu menghambat radikal bebas sebesar 94,82%. Ekstrak *n*-heksana memiliki kapasitas antioksidan yang berbanding terbalik dengan ekstrak metanol, yaitu dari konsentrasi rendah ketinggian semakin kecil. Perbedaan ini diduga karena ekstrak yang digunakan masih berupa ekstrak kasar, sehingga senyawa yang terkandung di dalam ekstrak kasar sampel fraksi metanol maupun *n*-heksana diduga masih mengandung gugus-gugus lain yang dapat mempengaruhi pengukuran antioksidan maupun prooksidan.

Hasil % kapasitas antioksidan sampel (ekstrak fraksi metanol dan *n*-heksana) dapat dibandingkan dengan pembanding (BHT dan Vitamin C) menggunakan persamaan regresi linear. Hasil % kapasitas antioksidan dari masing – masing ekstrak dapat dilihat pada lampiran 6. Hasil dari perbandingan % kapasitas antioksidan sampel dengan pembanding yang memiliki nilai terbaik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Hasil perbandingan % kapasitas antioksidan sampel dengan pembanding

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Kapasitas Antioksidan Sampel	Setara dengan % Kapasitas Antioksidan BHT	Setara dengan % Kapasitas Antioksidan Vit. C
Ekstrak fraksi metanol	400	79,82	10,17	< 1
Ekstrak fraksi <i>n</i> -heksana	1	94,82	> 50	7,75

Berdasarkan data Tabel 3 yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak fraksi *n*-heksana memiliki nilai % kapasitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan ekstrak fraksi metanol. Hal ini dapat dilihat bahwa ekstrak fraksi *n*-heksana dengan konsentrasi 1 ppm mampu menghasilkan % kapasitas antioksidan tinggi dibandingkan dengan ekstrak fraksi metanol.

Ekstrak fraksi *n*-heksana dengan konsentrasi 1 ppm mampu menghasilkan % kapasitas antioksidan sebesar 94,82% setara dengan > 50% kapasitas antioksidan BHT dan 7,75% kapasitas antioksidan Vit. C, sedangkan ekstrak fraksi metanol dengan konsentrasi 400 ppm menghasilkan % kapasitas antioksidan sebesar 79,82% setara dengan 10,17% kapasitas antioksidan BHT dan <1% Kapasitas antioksidan Vitamin C.

Pengukuran Kadar Fenolik Total

Kandungan senyawa fenolik pada ekstrak teripang pasir diukur dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu pada panjang gelombang 655 nm.

Hasil pengujian fenolik total dari ekstrak teripang pasir dari masing-masing fraksi yaitu metanol (69,09 EAG/g sampel) dan *n*-heksana (58,01 EAG/g sampel).

Uji Kandungan Senyawa Aktif Menggunakan Uji Reagen

Hasil uji reagen ekstrak teripang pasir ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil uji reagen ekstrak teripang pasir

Uji Reagen	Fraksi metanol	Fraksi <i>n</i> -heksana
Saponin	-	+
Triterpenoid	+	-
Steroid	-	-
Alkaloid :		
- R. Mayer	-	-
- R.	-	-
Dragendroff		
Flavonoid	-	-

Pemisahan Senyawa Aktif pada Ekstrak Teripang Pasir Menggunakan KLT

Pemisahan senyawa aktif dengan KLT ini bertujuan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa triterpenoid. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya banyak spot.

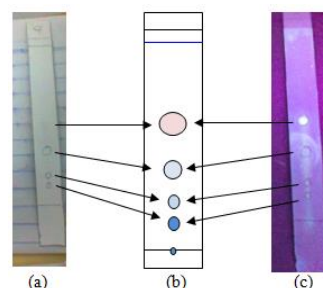
Hasil dari data spot KLT analitik ekstrak teripang pasir fraksi metanol dapat dilihat di Tabel 5. Diantara keseluruhan campuran eluen terdapat 5 eluen yang menghasilkan pemisahan spot yang baik yaitu eluen metanol : kloroform (5:2), metanol : kloroform (1:2), metanol : kloroform (7:3), *n*-butanol : NH₄OH (4:1) dan kloroform : metanol : aquades (20:60:4). Hasil KLT analitik dapat dilihat pada Tabel 5.

Spot hasil KLT menggunakan eluen *n*-butanol : NH₄OH (4:1) menghasilkan spot lebih baik, karena spot yang dihasilkan tidak berekor dan menghasilkan spot yang lebih banyak.

Hasil KLT analitik *n*-butanol : NH₄OH (4:1) disajikan dalam Gambar 3 dan Tabel 6.

Tabel 5 Hasil KLT dengan masing-masing eluen

Jenis Eluen	Nilai Rf spot yang dihasilkan	Warna spot di bawah sinar UV λ 366 nm setelah disemprot LB
Metanol:kloroform (5:2)	0,19; 0,68	Merah keunguan, kuning kehijauan
Metanol:kloroform (1:2)	0,64; 0,78	Kuning kehijauan, biru
Metanol:kloroform (7:3)	0,20; 0,70	Merah keunguan, kuning kehijauan
<i>n</i> -butanol:NH ₄ OH (4:1)	0,10; 0,16; 0,30; 0,45	Biru, biru, biru, biru kemerahan
kloroform:metanol :air (20:60:4)	0,67; 0,75	Putih kekuningan, biru keunguan



Gambar 3 Profil plat hasil KLT ekstrak teripang pasir fraksi metanol eluen *n*-butanol : NH₄OH (4:1).

Keterangan:

- (a) hasil elusi setelah disemprot reagen Lieberman-Burchard
- (b) gambar hasil pengamatan
- (c) hasil pengamatan sinar UV pada λ 366nm setelah disemprot reagen Lieberman-Burchard.

Tabel 6 Hasil KLT ekstrak teripang pasir fraksi metanol denganeluen *n*-butanol : NH₄OH (4:1)

Rf tiap noda	Warna noda tanpa sinar UV pada λ 366 nm		Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366 nm		Dugaan Senyawa yang Mungkin
	sebelum disemprot reagen Lieberman-Burchard	setelah disemprot reagen Lieberman-Burchard	sebelum disemprot reagen Lieberman-Burchard	setelah disemprot reagen Lieberman-Burchard	
0,1	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Biru	Biru	Triterpenoid
0,16	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Kuning	Biru	Triterpenoid
0,3	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Biru	Biru	Triterpenoid
0,45	Tidak berwarna	Merah keunguan	Tidak berwarna	Biru kemerahan	Triterpenoid

Golongan senyawa triterpenoid hasil KLT setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Burchard ditunjukkan dengan terbentuknya bercak noda berwarna hijau

kebiruan (Handayani, 2008) hijau tua sampai ungu tua (Bawa, 2009), merah kecoklatan sampai merah ungu (Halimah, 2010). Spot-spot hasil KLT pada ekstrak teripang pasir fraksi metanol ini diduga merupakan golongan senyawa triterpenoid.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa sebagai berikut :

1. Kandungan fenolik total pada teripang pasir (*Holothuria scabra*) fraksi metanol sebesar 69,09 mg EAG/gr sampel, sedangkan pada fraksi *n*-heksana sebesar 58,01 mg EAG/gr sampel.
2. Kapasitas antioksidan pada teripang pasir fraksi metanol sebesar 79,82 %, sedangkan pada fraksi *n*-heksana sebesar 94,82 %.
3. Hasil uji reagen pada fraksi metanolekstrak teripang pasir menunjukkan adanya golongan senyawa triterpenoid, sedangkan pada fraksi *n*-heksana menunjukkan adanya golongan senyawa saponin.
4. Eluen yang terbaik untuk memisahkansenyawa aktif ekstrak teripang pasir fraksi metanol menggunakan metode KLT yaitu *n*-butanol : NH₄OH (4:1).

Saran

Penelitian ini agar mendekati sempurna saran yang perlu diperbaiki dari penelitian ini, diantaranya yaitu:

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut sampai pada tahap identifikasi agar dapat mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan tersebut.

V. DAFTAR PUSTAKA

Bawa, I. G. A. G. 2009. *Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (Momordica charantia L.)*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. *Jurnal*

Kimia 3(2). ISSN 1907-9850: 1117-124.

- Halimah, N. 2010. *Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Aning-Aning (Acalypha indica L.) Terhadap Larva Udang Artemia salina Leach*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kadin. 2004. *NKRI: Negara Kepulauan Republik Indonesia*. <http://www.kadinbatam.or.id/imu/tmi.pdf>. diakses pada tanggal 05 Oktober 2011.
- Nurhidayati. 2009. *Efek Protektif Teripang Pasir (Holothuria scabra) terhadap Hepatotoksistas yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄)*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Sateni. 2012. Wawancara Pribadi dilakukan pada tanggal 16 September 2012. Surabaya.
- Yuliani, D. 2010. *Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jinten Hitam (Nigella sativa, L.)*. Malang: Jurusan Kimia UIN MALIKI Malang.