

## STABILITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TERIPANG HITAM (*Holothuria atra*) TERHADAP SUHU DAN LAMA PEMANASAN

### Antioxidant stability of black sea cucumber extract (*Holothuria atra*) on temperature and heating time

Lutfi Yulmiftiyanto Nurhamzah<sup>1\*</sup>, Tri Winarni Agustini<sup>2</sup>, A. Suhaeli Fahmi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Siliwangi, Jl. Siliwangi  
No. 24 Kota Tasikmalaya, Jawa Barat 46115

<sup>2</sup> Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan  
dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang,  
Semarang, Jawa Tengah 50275

\*Korespondensi: tagustini@lecturer.undip.ac.id

#### ABSTRACT

*Holothuria atra* is a marine biota that contains antioxidant compounds. Antioxidant compounds in the processing process can experience degeneration due to several factors, namely temperature and pH. The purpose of this study was to determine the content of antioxidant compounds and the potential of black sea cucumbers as a healthy food source. The extraction process was carried out by maceration using 96% ethanol solvent. This study used heating temperature (60°C and 90°C) and heating time (30 minutes, 60 minutes, 90 minutes). The stability of antioxidant compounds was seen through the DPPH (IC<sub>50</sub>), Phenol, and Flavonoid tests. Parametric data were analyzed by ANOVA. The results of the secondary metabolite test for *H. atra* were antioxidants with an IC<sub>50</sub> value of 97.63 ± 2.78, phenolics 3.13 ± 0.096 mgGAE/g, flavonoids 1.72 ± 0.091 mg/g. The IC<sub>50</sub> value decreased by more than 50% at 90°C for 30 minutes is 321.84 ± 11.82 ppm, the phenol value decreased by more than 50% at 90°C for 30 minutes, which was 1.21 ± 0.006 ppm, the flavonoid value decreased by more than 50% at 60°C for 90 minutes, which is 0.67 ± 0.008. The content of antioxidants in black sea cucumber has the potential as a functional food that is beneficial to health.

**Keywords:** *Holothuria atra*, antioxidant activity, stability

#### ABSTRAK

*Holothuria atra* merupakan salah satu biota laut yang mempunyai kandungan senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan dalam proses pengolahannya dapat mengalami degenerasi karena beberapa faktor, yaitu suhu dan pH. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa antioksidan dan potensi teripang hitam sebagai sumber pangan sehat. Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penelitian ini menggunakan suhu pemanasan (60°C dan 90°C) dan lama pemanasan (30 menit, 60 menit, 90 menit). Stabilitas senyawa antioksidan dilihat melalui uji DPPH (IC<sub>50</sub>), Fenol, dan Flavonoid. Data parametrik dianalisis dengan ANOVA. Hasil uji metabolit sekunder *H. atra* yaitu, antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> 97,63±2,78 ppm, fenolik 3,13±0,096 mgGAE/g, flavonoid 1,72±0,091 mg/g. Nilai IC<sub>50</sub> turun melebihi 50% pada perlakuan suhu 90°C selama 30 menit yaitu sebesar 321,84±11,82 ppm, nilai fenol turun melebihi 50% pada perlakuan suhu 90°C selama 30 menit yaitu sebesar 1,21±0,006 ppm, nilai flavonoid turun melebihi 50% pada perlakuan suhu 60°C selama 90 menit yaitu sebesar 0,67±0,008. Kandungan antioksidan pada teripang hitam memiliki potensi sebagai pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan.

**Kata kunci :** *Holothuria atra*, aktivitas antioksidan, stabilitas

## PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Senyawa tersebut bekerja dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas. Terdapat dua golongan antioksidan yang ada di dunia yaitu antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan dan antioksidan sintetis atau antioksidan buatan. Antioksidan alami dihasilkan dari vitamin yang berasal dari bahan makanan berupa buah dan sayur. Senyawa antioksidan tersebut diantaranya vitamin E, (vitamin A), dan vitamin C. Antioksidan yang dibuat secara sintetis dan dapat diterapkan pada industri makanan serta penggunaannya sangat luas bahkan di seluruh dunia diantaranya adalah Butil Hidroksi Toluen (BHT), Butil Hidroksi Anisol (BHA), propil galat, dan Tert Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) (1). Antioksidan alami telah diketahui banyak ditemukan pada sumber daya perikanan salah satunya yaitu teripang hitam.

Teripang hitam (*Holothuria atra*) merupakan satu dari sekian banyak sumber daya perikanan yang mempunyai kandungan aktivitas senyawa antioksidan. Senyawa bioaktif yang terkandung memiliki potensi untuk dijadikan sumber pangan fungsional. Terdapat beberapa senyawa bioaktif dalam teripang diantaranya kandungan fenolik, flavonoid, dan steroid. Ekstrak teripang hitam yang dilarutkan dengan pelarut etanol dan etil asetat keduanya telah diketahui positif mengandung senyawa steroid, saponin, alkaloid, dan triterpenoid (2). Kandungan senyawa saponin sangat berperan penting terhadap kelangsungan hidup teripang. Senyawa tersebut digunakan oleh teripang sebagai alat untuk perlindungan diri secara kimiawi di lingkungan tempat hidupnya (3).

Senyawa antioksidan dalam proses pengolahannya dapat mengalami degenerasi karena beberapa faktor eksternal, yaitu suhu. Dimana pengolahan teripang yang telah diketahui yaitu dengan cara pengeringan di bawah sinar matahari dapat menurunkan kerja senyawa antioksidan sebagai penangkal radikal bebas. Faktor ekstrinsik lain yang dapat mempengaruhi stabilitas senyawa antioksidan pada teripang hitam yaitu pH. pH yang cenderung asam akan merusak kerja antioksidan. Hal tersebut terjadi karena antioksidan dapat rusak pada suasana pH dibawah 6 (4). Penggunaan suhu dan lama pemanasan mengacu pada metode pengolahan teripang secara umum yang masih

diolah secara tradisional. Suhu 60°C dan 90°C dengan lama pemanasan 30 menit, 60 menit, dan 90 menit merupakan metode pengolahan yang umum digunakan oleh masyarakat sekitar pantai. Suhu dan waktu pengolahan tersebut banyak digunakan oleh masyarakat baik untuk mengeringkan teripang dibawah sinar matahari maupun untuk merebus teripang untuk dikonsumsi. Pengaruh suhu dan lama pemanasan diyakini dapat menurunkan aktivitas senyawa antioksidan pada teripang.

Keberadaan senyawa antioksidan tersebut dapat menjadikan teripang hitam sebagai bahan baku makanan yang kaya manfaat kesehatan bagi manusia. Teripang emas telah banyak diolah menjadi makanan suplemen yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Untuk itu, diperlukan uji stabilitas senyawa antioksidan teripang hitam terhadap suhu dan lama pemanasan. Informasi mengenai keberadaan dan stabilitas antioksidan teripang hitam terhadap suhu dan lama pemanasan diharapkan pada masa yang akan datang konsumen dapat mengolah teripang dengan baik dan benar tanpa mengurangi atau bahkan menghilangkan senyawa antioksidan yang bermanfaat untuk kesehatan manusia.

## **METODE**

### **Bahan**

Bahan penelitian meliputi Teripang hitam (*Holothuria atra*) segar ditangkap dari Pantai Pulau Menjangan Kecil, Kecamatan Karimunjawa, Kabupaten Jepara. Jumlah sampel yang diambil sebanyak 45 ekor atau seberat 1,5 kg. Sampel kemudian dibelah menggunakan pisau pada bagian tubuhnya secara melintang, dari bagian bawah mulut sampai dengan bagian ekor. Kemudian sampel dipotong ukuran 1x1 cm. Reagen Metanol, DPPH (1,1-diphenyl 2-picrylhidrazil), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, *Follin Ciocalteu*, AlCl<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub>, Etanol, NaOH. Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya *Rotary evaporator*, Timbangan digital (Adventurer™ Pro), *Erlenmeyer* (Herma), *Gelas ukur*, Botol vial, Pisau (Wusthof), Gunting (Joyko 838), Aluminium foil (Klin Pak), Corong (Pyrex), Kertas saring (Whatman), Spektrofotometer UV-Vis, Tabung reaksi (Pyrex), Rak tabung reaksi, Mikro pipet (Acura 625), Kuvet (quartz glass), *Vortex* (Branson 1510).

Preparasi sampel dilakukan dengan cara sebanyak 1 kg teripang segar yang sudah dibersihkan isi perutnya dipotong menjadi ukuran 1x1 cm. Selanjutnya sampel dicuci menggunakan air kran untuk menghilangkan kotoran. Setelah bersih teripang diangin-anginkan supaya air sisa pencucian mengering atau tidak membasahi teripang hitam. Sampel yang sudah kering kemudian dimasukkan ke dalam stoples kaca ukuran 5 liter dan disiapkan untuk dimaserasi.

Ekstraksi teripang dilakukan menggunakan metode maserasi tunggal dengan menggunakan satu jenis pelarut, yaitu pelarut etanol 96%. Sampel *H. atra* ditimbang sebanyak 1000 gram, kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% (3000 ml p.a) dengan perbandingan 1:3 (w/v) atau hingga sampel terendam sempurna. Proses maserasi dilakukan didalam stoples kaca, disimpan ditempat gelap terlindungi dari cahaya. Maserasi dilakukan 3x24 jam. Setelah maserasi hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring. Hasil sampel yang telah disaring kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu  $38^{\circ}\text{C}\pm 2$ .

Ekstrak *H. atra* kemudian diencerkan untuk dianalisis dan diberikan perlakuan pemanasan. Hasil evaporasi ekstrak teripang yaitu seberat 0,54 gr diencerkan dengan pelarut etanol 96% 60 ml. Hasil pengenceran kemudian dimasukan kedalam tabung reaksi. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam sebanyak 10 ml, tabung reaksi kemudian ditutup.

Hasil ekstrak yang telah diencerkan menggunakan pelarut etanol 96% kemudian diberikan perlakuan suhu dan lama pemanasan. Suhu dan lama pemanasan yang digunakan yaitu,  $60^{\circ}\text{C}$  dan  $90^{\circ}\text{C}$  dengan lama pemanasan yaitu 30 menit, 60 menit, dan 90 menit. Setelah di panaskan kemudian sampel dilakukan uji stabilitas senyawa antioksidan menggunakan alat spektrofotometer.

### **Pengujian Kadar Fenol**

Penentuan senyawa fenol dilakukan menggunakan senyawa/pereaksi *Folin-Ciocalteu* atau disebut dengan analisis standar asam galat (GAE). Konsentrasi standar asam galat dibuat dengan beberapa konsentrasi: 2,5; 5; 10; 20; 40; 60 ppm. Aquades 8 mL dan *Folin-Ciocalteu* 0,5 mL ditambahkan pada 0,5 mL ekstrak sampel.

Selanjutnya, hasil campuran ditambahkan 1 mL natrium karbonat. Larutan yang sudah dibuat kemudian didiamkan pada kondisi gelap selama 1 jam. Selanjutnya, larutan tersebut diukur absorbansinya pada 750 nm menggunakan spektrofotometer. Total fenol dihitung menggunakan kurva kalibrasi asam galat. (5).

$$\text{Total Fenol (mg GAE/g)} = \frac{C \text{ GAE} \times \text{Volume (ml)}}{\text{Massa bahan (g)}}$$

### **Aktivitas Antioksidan**

Aktivitas antioksidan sampel *H. atra* dianalisis menggunakan metode DPPH. Sebanyak 1 mL ekstrak sampel dilarutkan dalam pelarut metanol pada konsentrasi: 50, 40, 30, 20, 10 ppm. Konsentrasi pengenceran yang digunakan: 40, 80, 120, 160, dan 200 ppm. Kemudian, 3,8 mL larutan DPPH ditambahkan ke masing-masing larutan. Selanjutnya dihomogenisasi selama 1 menit dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang kondisi tanpa cahaya. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm.  $\alpha$ -tocoperol digunakan sebagai larutan standar (6). Perhitungan % inhibisi:

$$\text{inhibisi (\%)} = [1 - (\text{Absorban sampel}/\text{Absorban blanko})] \times 100\%$$

### **Aktivitas Senyawa Flavonoid**

Konsentrasi standar *quercetin* dibuat menjadi beberapa konsentrasi (2,5, 5, 10, 20, 40, 80 ppm). Sebanyak 1 mL, 0,7 mL NaNO<sub>2</sub> 5% dan 10 mL etanol 30% dihomogenisasi dan di diamkan selama 5 menit. Selanjutnya tambahkan 0.7 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan dilanjutkan homogenisasi. Kemudian tambahkan 5 mL NaOH 1 mol/L. Tahap selanjutnya, larutan diencerkan menggunakan 25 mL etanol 30%. Larutan di diamkan selama 10 menit, selanjutnya larutan diukur pada absorbansi 430 nm. Kurva standar diplot menggunakan *quercetin* sebagai standar. Standar kuersetin disiapkan dalam etanol 80% serta absorbansinya diukur pada 430 nm. (5).

### **Rancangan Percobaan**

Penelitian ini dilakukan secara *experimental laboratories* model rancangan acak lengkap faktorial (2x3) dengan dua faktor yaitu suhu (60°C dan 90°C) dan lama

pemanasan (30 menit, 60 menit, 90 menit) dengan 3 kali pengulangan. Stabilitas senyawa antioksidan dilihat melalui uji DPPH (IC<sub>50</sub>), Fenol, dan Flavonoid.

### Analisa Data

Analisis data dilakukan menggunakan *analysis of variance*. Kemudian jika terdapat perbedaan yang nyata, dilakukan uji lanjut untuk melihat perbedaan antar tiap perlakuan berdasarkan nilai koefisien keragaman yang diperoleh/Uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

### HASIL

Hasil analisis aktivitas senyawa antioksidan pada teripang hitam. Nilai IC<sub>50</sub> disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC<sub>50</sub> Antioksidan Setelah Pemanasan.

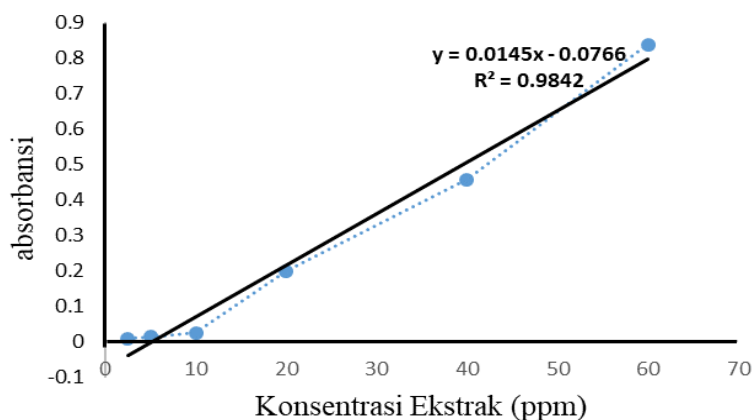
Suhu Pemanasan (°C)	Waktu Pemanasan (menit)	Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)
60	0	97.63±2.78
	30	110,7±2,78 <sup>a</sup>
	60	125,1±3,15 <sup>a</sup>
	90	155,7±2,16 <sup>b</sup>
90	0	97.63±2.78
	30	321,8±11,8 <sup>c</sup>
	60	379,8±7,37 <sup>d</sup>
	90	479,1±3,52 <sup>e</sup>

Keterangan :

- Data dihasilkan dari rata-rata 3 kali ulangan
- Data yang ditandai dengan huruf kecil menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan

Berdasarkan tabel 1, kandungan senyawa antioksidan teripang hitam mengalami penurunan. Pada awal identifikasi nilai IC<sub>50</sub> sebesar 97.63 ppm, kemudian mengalami penurunan setelah diberikan perlakuan. Perlakuan awal sampel dengan suhu 60° C, 30 menit nilai IC<sub>50</sub> sebesar 110.79 ppm, dan turun mencapai lebih dari 50% kandungan awal pada perlakuan suhu 90° C, 30 menit yaitu sebesar 321,84 ppm. Penelitian lain mengungkapkan nilai % RSA beras ketan yang dipanaskan pada suhu 30°C selama 15 menit dengan nilai 83 ppm mengalami penurunan lebih dari 50% pada perlakuan pemanasan suhu 60°C selama 15 menit, yaitu 37,6 ppm (7). Penelitian lain

juga mengungkapkan bahwa pemisahan senyawa fenol, denaturasi jaringan, dan pelunakan dapat mengurangi jumlah kandungan senyawa antioksidan pada bahan makanan berupa sayur dan buah-buahan (8).



Gambar 1. Kurva asam galat aktivitas senyawa fenol

Hasil analisis aktivitas senyawa fenol pada teripang hitam. Nilai fenol disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Senyawa Fenol Teripang Hitam Sebelum dan Sesudah Pemanasan

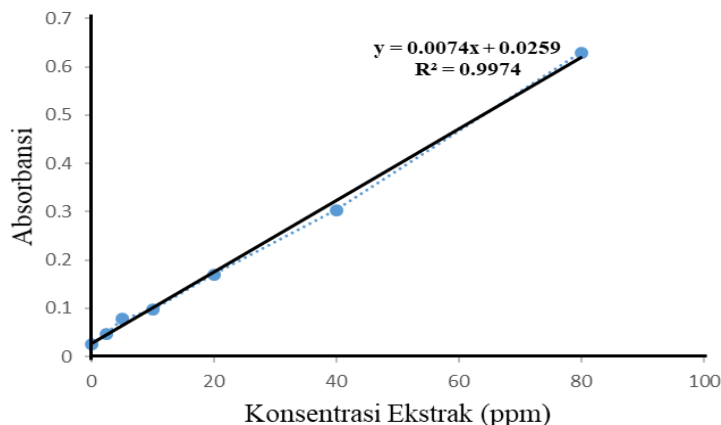
Suhu Pemanasan (°C)	Waktu Pemanasan (menit)	Nilai Fenol (mgGAE/g)
60	0	3,13±0,096
	30	2,69±0,012 <sup>f</sup>
	60	2,29±0,046 <sup>e</sup>
	90	1,97±0,01 <sup>d</sup>
90	0	3,13±0,096
	30	1,21±0,006 <sup>c</sup>
	60	0,98±0,008 <sup>b</sup>
	90	0,83±0,016 <sup>a</sup>

Keterangan :

- Data dihasilkan dari rata-rata 3 kali ulangan
- Data yang ditandai dengan huruf kecil menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan

Berdasarkan hasil pengujian kadar total fenol dapat dijelaskan bahwa dalam setiap gram kandungan awal ekstrak teripang hitam mengandung 3,13 mg GAE/g. Penelitian pada jenis teripang lain menyebutkan bahwa nilai kandungan fenolik ekstrak

seluruh tubuh teripang spesies *H. scabra* menggunakan pelarut methanol, yaitu sebesar 30,52 mgGAE/g (6). Hal ini juga diperkuat penelitian lain, dimana teripang pasir mengandung total fenol pada masing-masing pelarut sebesar 69,09 EAG/g sampel pada fraksi pelarut methanol dan 58,01 EAG/g sampel pada fraksi pelarut n-heksana) (9).



Gambar 2. Kurva standar *Quercetin* aktivitas senyawa flavonoid

Hasil analisis aktivitas senyawa fenol pada teripang hitam. Nilai fenol disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Perubahan Senyawa Flavonoid Teripang Hitam Sesudah Pemanasan.

Suhu Pemanasan (°C)	Waktu Pemanasan (menit)	Nilai Flavonoid (mg/g)
60	0	1,72±0,091
	30	1,50±0,09 <sup>f</sup>
	60	1,12±0,06 <sup>e</sup>
	90	0,67±0,008 <sup>d</sup>
90	0	1,72±0,091
	30	0,2±0,007 <sup>c</sup>
	60	0,14±0,003 <sup>b</sup>
	90	0,078±0,006 <sup>a</sup>

Keterangan :

- Data dihasilkan dari rata-rata 3 kali ulangan
- Data yang ditandai dengan huruf kecil menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan

Kandungan senyawa flavonoid teripang hitam berkurang dengan adanya perlakuan pemanasan. Pada awal identifikasi nilai flavonoid sebesar 1,72 mg/g,



kemudian mengalami penurunan setelah diberikan perlakuan suhu dan waktu pemanasan. Perlakuan awal sampel dengan suhu 60° C, 30 menit nilai flavonoid sebesar 1,50 mg/g, dan turun mencapai lebih dari 50% kandungan awal pada perlakuan suhu 60° C, 90 menit yaitu sebesar 0,67 mg/g.

## DISKUSI

Ekstrak teripang hitam yang diperoleh berwarna orange pekat. Rendemen ekstrak teripang hitam (*H. atra*) segar yaitu 15,88 gram, atau 0,59% dari berat awal teripang utuh. Perbedaan rendemen ekstrak teripang antara teripang segar dengan hasil ekstrak yang dihasilkan kemungkinan disebabkan oleh sifat dari pelarut tersebut, yaitu metanol, etanol dan n-heksana. Hal tersebut dapat terjadi bahwa prinsip sistem kepolaran dapat menentukan komponen senyawa yang diikat pada saat tahapan ekstraksi sampel teripang. Tingkat kelarutan suatu senyawa dalam bahan saat proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. (10). Hal ini diperkuat bahwa, teripang yang diekstrak menggunakan pelarut metanol dan etanol menghasilkan warna sampel kuning kecokelatan dan berbau amis khas teripang, serta masing-masing ekstrak memiliki rendemen sebesar 0,88% dan 2,28% (11).

Hasil uji fenol dan flavonoid yang telah dilakukan menunjukkan bahwa sampel ekstrak teripang hitam memiliki kandungan fenol dan flavonoid. Kandungan fenolik (3,13 mgGAE/g) pada teripang hitam lebih besar daripada kandungan flavonoid (1,72 mg/g). Senyawa fenol berperan sebagai antioksidan karena tersusun dari senyawa-senyawa flavonoid. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian lain yang mengungkapkan bahwa keberadaan senyawa flavonoid dan senyawa fenol merupakan senyawa yang berperan mencegah kerusakan komponen seluler dari radikal bebas(12).

Penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan teripang hitam yang diukur menggunakan nilai IC<sub>50</sub> adalah sebesar 97,63 ppm. Nilai tersebut menandakan bahwa kandungan senyawa antioksidan yang terdapat pada teripang hitam tergolong kuat. Senyawa antioksidan dinyatakan tidak aktif apabila nilai IC<sub>50</sub> di atas 500 ppm, lemah berkisar antara 250-500 ppm, kuat berkisar antara 101-250 ppm, serta sangat kuat berkisar antara 1-100 ppm (13). Namun kandungan senyawa antioksidan teripang

hitam pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan jenis teripang lain. Dimana jenis teripang *Cucumaria frondosa* memiliki nilai IC<sub>50</sub> 17,77 ppm (14).

Interaksi antara suhu dan lama pemanasan berpengaruh nyata terhadap nilai IC<sub>50</sub>. Hasil tersebut menunjukkan bahwa masing-masing interaksi perlakuan mengalami penurunan nilai IC<sub>50</sub> seiring dengan kenaikan suhu dan lama pemanasan. Nilai IC<sub>50</sub> kandungan awal/tanpa perlakuan sebesar 97,63 ppm setelah mendapat perlakuan pemanasan dengan suhu 60°C selama 90 menit nilai antioksidan turun mencapai 155,76 ppm (58%), sedangkan sampel yang mendapat perlakuan pemanasan dengan suhu 90°C selama 90 menit mengalami degradasi nilai IC<sub>50</sub> sebesar 479,13 ppm (>400%) dari kandungan awal. Hal ini menunjukkan bahwa daripada faktor waktu pemanasan, suhu tinggi memiliki peran lebih besar terhadap turunnya kandungan antioksidan. Hasil penelitian tersebut didukung bahwa pengolahan makanan suhu tinggi dalam jangka waktu pendek merupakan metode terbaik untuk menyebabkan kerusakan senyawa antioksidan beserta senyawa penyusunnya termasuk fenol dan flavonoid (15).

Kandungan senyawa fenol teripang hitam jumlahnya semakin berkurang jika suhu meningkat dan waktu pemanasan lebih lama. Pada awal identifikasi nilai fenolik sebesar 3,13 mgGAE/g, kemudian mengalami penurunan setelah diberikan perlakuan suhu dan waktu pemanasan. Perlakuan awal sampel dengan suhu 60° C, 30 menit nilai fenol sebesar 2,69 mgGAE/g, dan turun mencapai lebih dari 50% kandungan awal pada perlakuan suhu 90° C, 30 menit yaitu sebesar 1,21 mgGAE/g. Pada penelitian lain menunjukkan kandungan polifenolik total pada jamur yang dipanaskan dengan cara direbus dan uap turun secara signifikan, dari kandungan awal 20.83 mgGAE/100g menjadi 6,18 mgGAE/100g dan 18,10 mgGAE/100g setelah dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit (16). Penurunan tersebut menunjukkan bahwa gangguan seluler seperti pelepasan senyawa fenol dan flavonoid disebabkan oleh perlakuan pemanasan dengan suhu tinggi. Proses pemotongan, paparan cahaya, dan suhu tinggi juga merupakan metode pengolahan makanan yang menyebabkan terjadinya pemisahan senyawa antioksidan dari struktur sel tumbuhan dan hewan (8).

Terdapat korelasi antara kandungan senyawa antioksidan dengan nilai total fenol setelah mendapat perlakuan pemanasan. Fenol merupakan salah satu senyawa

yang menjadi bagian dari antioksidan. Terdapat hubungan yang kuat antara kandungan fenol dan aktivitas antioksidan, karena fenol memiliki kemampuan menangkalkan radikal bebas yang kuat. Oleh karena itu, kandungan fenolik dapat secara langsung berkontribusi terhadap kemampuan antioksidan dalam menangkalkan radikal bebas (6).

Penelitian lain juga mengungkapkan bahwa senyawa fenolik hasil ekstrak methanol mampu menangkalkan radikal bebas. Semakin tinggi kandungan senyawa fenol maka semakin banyak senyawa radikal bebas yang terperangkap. Peristiwa senyawa fenol menangkalkan radikal bebas juga telah ditemukan pada penelitian di pisang goroho. Reaksi yang terjadi pada bahan makanan yang mengandung senyawa fenol yaitu adanya kandungan proton dan elektron dalam atom hidrogen dari senyawa fenol yang mampu melepaskan atom hidrogen maupun elektron kepada radikal bebas. Hasil akhir dari reaksi tersebut yaitu terbentuk senyawa non radikal *difenilpikrilhidrazin*. Peristiwa ini dibuktikan dengan berkurangnya absorbansi dari larutan DPPH kemudian diikuti perubahan warna dari semula ungu menjadi warna kekuningan(17).

Senyawa flavonoid cenderung mengalami penurunan setelah mendapat perlakuan pemanasan. Hal ini juga terjadi pada komoditi bawang merah, dimana nilai kandungan flavonoid bawang merah yang dipanaskan pada suhu 120°C selama 30 menit sebesar 9,6 mg/g mengalami penurunan ketika dipanaskan pada suhu 150°C selama 30 menit yaitu menjadi 5,4 mg/g. Biasanya pra-perlakuan bawang merah meliputi pengeringan menggunakan panas matahari, perebusan, dan pembakaran. (18). Terdapat korelasi antara kandungan senyawa antioksidan dengan nilai flavonoid setelah mendapat perlakuan pemanasan. Korelasi kedua senyawa tersebut ditunjukkan dengan adanya penurunan nilai masing-masing kandungan. Secara umum proses pasteurisasi konvensional dan pasteurisasi microwave menyebabkan kerusakan/kehilangan sebesar 6% dari total kandungan flavonoid yang diteliti (19).

## **KESIMPULAN**

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa teripang hitam (*H. atra*) memiliki kandungan senyawa bioaktif antioksidan sebesar 97,63 ppm, kandungan senyawa fenol sebesar 3,13 mgGAE/g, kandungan senyawa flavonoid 1,72 mg/g. Nilai kandungan

antioksidan teripang hitam tergolong sangat kuat, dibuktikan dengan nilai  $IC_{50}$  berada di bawah angka 100 ppm. Perlakuan pemanasan memberikan pengaruh terhadap nilai kandungan senyawa antioksidan, fenol, dan flavonoid. Kandungan nilai  $IC_{50}$  sebesar 97,63 ppm mengalami penurunan lebih dari 50% ketika pemanasan Suhu 90°C, 30 menit, yaitu nilai  $IC_{50}$  sebesar 321,84 ppm. Kandungan nilai fenol sebesar 3,13 mgGAE/g mengalami penurunan lebih dari 50% ketika pemanasan Suhu 90°C, 30 menit, yaitu sebesar 1,21 mgGAE/g. Begitu juga dengan nilai flavonoid, dengan kandungan awal 1,72 mg/g mengalami penurunan lebih dari 50% ketika pemanasan Suhu 60°C, 90 menit, yaitu sebesar 0,67 mg/g. Interaksi antara suhu dan lama pemanasan yang berbeda memberikan pengaruh nyata pada stabilitas aktivitas antioksidan, total fenol, dan total flavonoid teripang hitam. Kandungan senyawa antioksidan pada teripang hitam dapat menjadikan teripang hitam sebagai sumber pangan sehat untuk manusia yang kaya antioksidan alami.

## REFERENSI

1. Fitri N. Butylated hydroxyanisole sebagai Bahan Aditif Antioksidan pada Makanan dilihat dari Perspektif Kesehatan. *J Kefarmasian Indones.* 2014;4(1):41–50.
2. Septiadi T, Pringgenies D, Radjasa OK. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Keling (*Holothuria atra*) Dari Pantai Bandengan Jepara Terhadap Jamur *Candida albicans*. *J Mar Res [Internet]*. 2013;2(2):76–84. Available from: <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr/article/view/2355>
3. Oktaviani D, Mulyani Y, Rochima E. Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Jeroan Teripang *Holothuria atra* Dari Perairan Pulau Biawak Kabupaten Indramayu. *Perikan Kelaut.* 2015;VI(2):1–6.
4. Tan P, Mayulu N, Kawengian S. Gambaran Aktivitas Dan Stabilitas Antioksidan Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Kultivar Enrekang Sulawesi Selatan. *J e-Biomedik.* 2016;4(1):184–7.
5. Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules.* 2010;15(6):4324–33.
6. Nobsathian S, Tuchinda P, Sobhon P, Tinikul Y, Poljaroen J, Tinikul R, et al. An antioxidant activity of the whole body of *Holothuria scabra*. *Chem Biol Technol Agric.* 2017;4(1):17–21.
7. Suhartatik N, Karyantina M, Mustofa A, Cahyanto MN, Raharjo S, Rahayu ES. Stabilitas Ekstrak Antosianin Beras Ketan (*Oryza sativa* var. *glutinosa*)

- Hitam Selama Proses Pemanasan Dan Penyimpanan. *J Agritech*. 2013;33(4):384–90.
8. Ramdhan T, Aminah S. Pengaruh Pemasakan Terhadap Kandungan Antioksidan Sayuran. *Bul Pertan Perkota*. 2014;4(2):7–13.
  9. Wafa JA, Adi TK, Hanapi A, Fasya AG. Penentuan Kapasitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Dari Pantai Kenjeran Surabaya. *J Alchemy*. 2014;3(1):76–83.
  10. Pendit PACD, Zubaidah E, Sriherfyna FH. Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *J Pangan dan Agroindustri* [Internet]. 2016;4(1):400–9. Available from: <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/342>
  11. Ardiansyah A. Ekstraksi dan Formulasi Suspensi Oral Teripang *Holothuria scabra* sebagai Sumber Antioksidan Extraction and Oral Suspension Formulation of Sea Cucumber *Holothuria scabra* as Source of Antioxidants Abstrak Pendahuluan. *Oseanologi dan Limnol Indones*. 2016;1(December 2014):29–37.
  12. Bawole ASW, Wewengkang DS, Antasionasti I. Antioxidant Activity Of Sea Cucumber (*H. Atra*) With The DPPH ( 1 , 1-Diphenyl- 2-Picrylhydrazyl) Method. *Pharmacon*. 2021;10(2):863–7.
  13. Molyneux P. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Anti-Oxidant Activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004;26(May):211–9.
  14. Husni A, Shin IS, You SG, Chung D. Antioxidant properties of water and aqueous ethanol extracts and their crude saponin fractions from a far-eastern sea cucumber, *Stichopus japonicus*. *Food Sci Biotechnol*. 2009;18(2):419–24.
  15. Husna N EI, Novita M, Rohaya S. Anthocyanins Content and Antioxidant Activity of Fresh Purple Fleshed Sweet Potato and Selected Products. *Agritech*. 2013;33(3):296–302.
  16. Sengkhampan N, Phonkerd N. Effects of heat treatment on free radical scavenging capacities and phenolic compounds in *tylopilus Alboater* wild edible mushrooms. *Chiang Mai J Sci*. 2014;41(5–2):1241–9.
  17. Avigail Y, Yudiati E, Pringgenies D. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Pada Ekstrak Teripang di Perairan Karimunjawa, Jepara. *J Mar Res*. 2019;8(4):346–54.
  18. Sharma K, Ko EY, Assefa AD, Ha S, Nile SH, Lee ET, et al. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *J Food Drug Anal* [Internet]. 2015;23(2):243–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.005>
  19. Dehwie T, Sumarto S, Dahlia D. Aktivitas Antioksidan Kulit, Kitin dan Kitosan Teripang Pasir (*Holothuria scabra*). *J Teknol dan Ind Pertan Indones*. 2021;13(1):37–42.