

Pigment screening, phytochemical test, and cytotoxicity testing of the ethanol extract of *Holothuria atra* sea cucumber from Lemukutan island waters

Skrining pigmen, uji fitokimia, dan sitotoksik ekstrak etanol teripang *Holothuria atra* dari perairan Pulau Lemukutan

Wenti Yuliana, Nora Idiawati, Dwi Imam Prayitno*

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

*Corresponding author: dprayitno@fmipa.untan.ac.id

Abstract

Background: *Holothuria atra* is a type of sea cucumber found in the waters of Lemukutan Island, West Kalimantan, which has economic and ecological benefits. Personal experience found the presence of a water-soluble pigment when isolating sea cucumbers, which was bright red, thus drawing attention. Research on the water-soluble pigment of the ethanol extract of *H. atra* from Lemukutan Island waters has not been carried out yet. Natural pigments in sea cucumbers have a specific role as part of secondary metabolite compounds with the potential of having antimicrobial, antifungal, anticancer, antitumor, antiviral, anticoagulant, and antioxidant activities.

Objective: This study aimed to determine the natural pigments, secondary metabolites, and cytotoxic compounds in the ethanolic extract of *H. atra*.

Methods: Samples of *H. atra* were extracted with 96% ethanol. The pigment analysis used a UV-Vis spectrophotometry while the secondary metabolites was tested by the phytochemical screening method, and the cytotoxicity testing involved the *Brine Shrimp Lethal Toxicity* (BSLT) method.

Results: The obtained optimum absorption was 230 nm, which indicated a melanin pigment. The phytochemical test on the ethanolic extract of *H. atra* found flavonoid, phenolic, alkaloid, saponin, and triterpenoid compounds. The cytotoxicity test based on LC₅₀ was 6.985 ppm, indicating the extract was categorized as extremely toxic because it was <30 ppm.

Conclusion: The pigment in *H. atra* is melanin, the secondary metabolites consist of flavonoids, phenolics, alkaloids, saponins, and triterpenoids, and it has a highly toxic activity.

Keywords: *Holothuria atra*, melanin, phytochemical test, BSLT, cytotoxic

Intisari

Latar belakang: *Holothuria atra* adalah salah satu jenis teripang yang ditemukan di Perairan Pulau Lemukutan Kalimantan Barat, memiliki manfaat ekonomi maupun ekologi. Pengalaman saat pengambilan sampel dijumpai adanya pigmen larut air dari tempat sampel, berwarna merah cerah dan menarik perhatian. Penelitian tentang pigmen larut air pada ekstrak etanol *H. atra* dari perairan Pulau Lemukutan belum pernah dilakukan. Pigmen alami pada teripang memiliki peranan tertentu, sebagai bagian dari senyawa metabolit sekunder berpotensi sebagai antimikroba, antijamur, antikanker, antitumor, antivirus, antikoagulan dan antioksidan.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan mengetahui pigmen alami, senyawa metabolit sekunder dan potensi sitotoksik pada ekstrak etanol *H. atra*.

Metode: Sampel *H. atra* diekstraksi dengan etanol 96%. Analisis pigmen menggunakan spektrofotometri UV-Vis, pengujian senyawa metabolit sekunder dengan metode skrining fitokimia dan uji sitotoksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethal Toxicity* (BSLT).

Hasil: Serapan optimum yang dihasilkan oleh ekstrak etanol adalah 230 nm yang merupakan pigmen melanin. Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol *H. atra* ditemukan senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan triterpenoid. Uji sitotoksik berdasarkan LC₅₀ adalah 6,985 ppm menunjukkan ekstrak dengan kategori sangat toksik karena nilainya <30 ppm.

Kesimpulan: Pigmen pada *H. atra* yaitu melanin. Kadungan ekstrak etanol metabolit sekunder terdiri dari flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan triterpenoid serta memiliki aktivitas toksistas yang sangat toksik.

Kata kunci : *Holothuria atra*, melanin, uji fitokimia, BSLT, sitotoksik

1. Pendahuluan

Teripang adalah biota laut yang tersebar di perairan Indonesia mulai dari Barat hingga ke Timur. Salah satunya dapat ditemukan di perairan Pulau Lemukutan yang memiliki luas sekitar 1,236 ha (Ruliyansyah, 2016) terletak di provinsi Kalimantan Barat, dengan potensi teripang yang cukup tinggi (Firdaus *et al.*, 2015). Secara geografis, Pulau Lemukutan terletak di 0°42'6,31" LU - 0°48'32,91 LU dan 108°40'55,08" BT - 108°44'25,04" (Rudianto *et al.*, 2020). Jenis teripang yang mudah ditemukan di perairan Pulau Lemukutan adalah *H. atra*. Teripang tersebut umumnya ditemukan di daerah perairan dangkal hingga ke perairan dalam, dan terdapat pada daerah terumbu karang, pantai berbatuan dan berlumpur (Satria *et al.*, 2014). Secara ekonomi teripang dimanfaatkan sebagai sumber makanan, bahan kosmetik dan obat-obatan dari berbagai penyakit (Handayani *et al.*, 2017), secara ekologi berperan penting dalam rantai makanan, yaitu sebagai penyumbang pakan bagi biota laut serta menyuburkan substrat (Lewerissa, 2014). Teripang *H. atra* memiliki komponen bioaktif yang berpotensi sebagai antijamur, antibakteri, antimalaria, antikoagulan, antikanker, antibakteri, antirematik, antivirus dan meningkatkan imunitas (Damanik *et al.*, 2019).

Fenomena ditemukannya warna merah pekat pada air hasil sampling *H. atra* diduga kuat disebabkan oleh pigmen alami. Xing *et al.* (2017) melaporkan pada beberapa jenis teripang ditemukan pigmen alami yang terdiri dari guanin, melanin, astaxanthin, b-karoten, dan lutein. Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol untuk mendapatkan hasil yang optimal, dikarenakan etanol merupakan pelarut yang polaritasnya mendekati air maka akan mampu menjawab fenomena pigmen larut dalam air sewaktu sampling. Selanjutnya, untuk menentukan arah eksplorasi ekstrak etanol *H. atra*, dilakukan analisis toksistas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini digunakan untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan sebagai skrining *bioassay* untuk penelitian bahan alam yang menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan percobaan (Kilungga *et al.*, 2019). Ekstrak etanol tersebut dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ (Aras, 2013).

Penelitian mengenai skrining pigmen, uji fitokimia dan uji toksistasnya pada teripang *H. atra* dari perairan Pulau Lemukutan belum pernah dilakukan, sehingga hasil penelitian ini membantu menemukan bidang aplikasi yang tepat untuk eksplorasi *H. atra*. Oleh karenanya, perlu dilakukan

skrining jenis pigmen, analisis senyawa metabolit sekunder dengan uji fitokimia, uji toksisitas teripang pasir *H. atra* dari perairan Pulau Lemukutan dengan metode BSLT.

2. Metode

2.1. Deskripsi bahan dan teknik pengumpulan sampel

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, akuades, aseton, metanol, kertas saring, teripang pasir, etanol 96 %, larva *Artemia salina*, Magnesium (Mg), HCl pekat, FeCl₃ 5 %, FeCl₃, HCl 2N, air panas, preaksi Liebermann-Burchard, preaksi Dragendorff, preaksi Wagner, dan Preaksi Meyer.

Sampel *H. atra* diperoleh dari perairan Teluk Cina Pulau Lemukutan, Kabupaten Bengkayang, Provinsi Kalimantan Barat. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil langsung dari perairan, lalu dimasukkan kedalam *coolbox* kemudian dibawa ke Laboratorium Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Tanjungpura Pontianak.

2.2. Preparasi sampel

Sampel teripang *H. atra* yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang segar. Sampel teripang dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dipisahkan dari jeroannya dengan cara membelahnya secara melintang lalu jeroannya dikeluarkan, kemudian dibersihkan kembali. Selanjutnya dipotong kecil-kecil dan di blender hingga halus.

2.3. Ekstraksi sampel

Ekstraksi sampel dilakukan untuk mengekstrak senyawa yang ada pada teripang *H. atra* dengan metode maserasi yang mengacu pada penelitian Umboh (2018). Sampel teripang *H. atra* ditimbang sebanyak 300 gr ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan sampel dan pelarut adalah 1:2. Proses ini dilakukan selama 3x24 jam dan disimpan di tempat yang tidak terkena matahari. Pelarut pada ekstrak sampel diganti selama 1x24 jam. Filtrat yang dihasilkan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C agar senyawa bioaktif pada sampel tidak rusak, hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental / pekat. Ekstrak kasar kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

2.4. Pembacaan serapan optimum pigmen

Pembacaan serapan optimum dari ekstrak etanol *H. atra* untuk menentukan pigmen alami dengan digunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Ekstrak teripang *H. atra* diambil sedikit dimasukan kedalam botol vial, lalu dilarutkan dengan air dan dihomogenkan. Ekstrak yang telah larut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 200-700 nm. Serapan optimum pigmen yang ditunjukkan di spektrofotomer UV-Vis kemudian dilakukan analisis dengan dicocokkan berdasarkan literatur.

2.5. Uji fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan senyawa bioaktif pada *H. atra*. Uji fitokimia terdiri dari pengujian pada senyawa flavonoid, fenol saponin, alkaloid, tanin, dan steroid/triterpenoid (Harborne, 1987).

- Uji flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan Magnesium (Mg) sedikit. Kemudian ditambahkan HCl 5-10 tetes. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna orange (flavon), merah muda (flavonol), warna merah (2,3 dihidrioflavonol dan ungu (xanthone).
- Uji fenolik dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5-10 tetes FeCl₃ 5%. Hasil uji positif jika terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat.
- Uji saponin dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambah air yang telah dipanaskan sebanyak 1 mL, kemudian dikocok hingga menghasilkan busa. Hasil uji positif jika busa tetap stabil setelah ditambahkan beberapa tetes HCl 2 N.
- Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan masing-masing preaksi Meyer, preaksi Dragendorff dan preaksi Wagner 5-10 tetes. Hasil uji positif jika terjadi perubahan warna menjadi putih kekuningan pada preaksi Meyer, merah pada preaksi Dragendorff, dan kecolakatan pada preaksi Wagner.
- Uji steroid/triterpenoid dilakukan dengan cara ekstrak sampel yang telah dilarutkan dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5-10 tetes preaksi Liebermann-Burchard. Hasil uji positif jika terbentuk warna hijau sampai biru menunjukkan steroid, sedangkan terbentuk warna merah menunjukkan adanya triterpenoid.

2.6. Uji sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan untuk menentukan kemampuan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada ekstrak etanol *H. atra* dalam menghambat pertumbuhan larva *A. salina* dengan metode BSLT. Uji sitotoksik pada mengacu Aras (2013), pada telur *A. salina* diambil sedikit lalu ditetaskan dalam gelas beker berisi air laut sekitar 250 mL yang telah disaring dengan kertas saring. Telur dalam wadah yang akan ditetaskan dibawah lampu dan dilengkapi dengan aerator. Setelah 48 jam telur *A. salina* akan menetas dan menjadi larva udang. Larva *A. salina* yang digunakan adalah larva yang telah berumur 2 hari. Pengujian ini dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Ekstrak *H. atra* ditimbang sebanyak 40 mg dan dilarutkan dengan air laut sebanyak 4 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 ppm. Larutan yang diperoleh dipipet masing-masing sebanyak 1000 μL , 100 μL , 10 μL . Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan air laut hingga volume 10 mL kemudian dihomogenkan, sehingga masing-masing larutan menjadi 1000 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm, selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva udang *A. salina*. Kontrol yang digunakan sebagai pembanding dibuat dengan cara yang sama kecuali penambahan ekstrak. Air laut dimasukkan setengah kedalam botol vial, lalu dimasukkan 10 ekor larva *A. salina* kemudian tepatkan dengan air laut hingga volume 10 mL. Pengamatan kematian larva *A. salina* dilakukan setelah 24 jam.

$$\text{Kematian larva } A. \text{ salina} = \frac{T-K}{10} \times 100 \%$$

Keterangan:

T = Jumlah larva uji mati

K = Jumlah larva kontrol yang mati

Selanjutnya data yang diperoleh dilakukan analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50} .

3. Hasil dan pembahasan

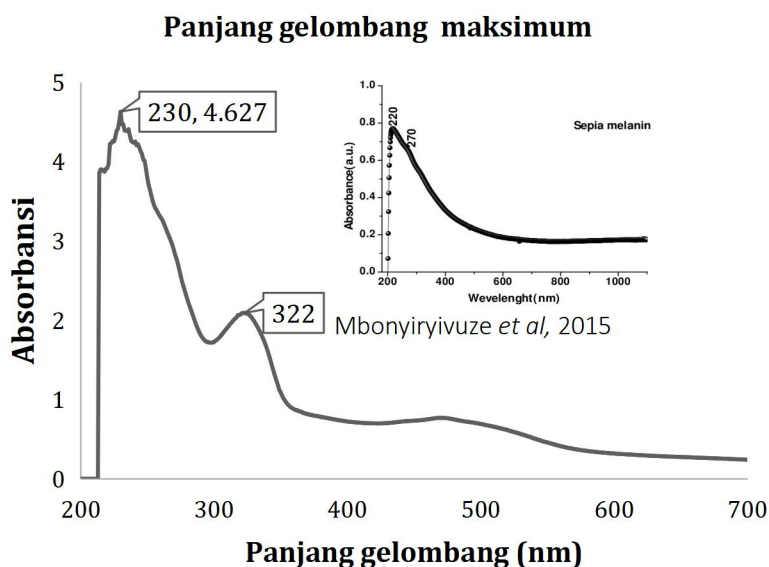
3.1 Ekstrak sampel

Proses maserasi *H. atra* dilakukan selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol adalah pelarut polar yang universal sehingga dapat menarik senyawa polar dan non polar, serta dapat bercampur dengan air. Kepolaran etanol dipengaruhi oleh adanya gugus hidroksil (-OH) yang bersifat polar dan gugus etil (CH_3CH_2) bersifat non polar (Yuliana, 2016). Selain itu, etanol memiliki sifat yang mudah menguap sehingga baik digunakan untuk mengekstrak senyawa bioaktif pada *H. atra* Selama proses ekstraksi pelarut diganti setiap hari dalam waktu 1x24 jam yang bertujuan supaya ekstrak yang dihasilkan lebih banyak. Selain itu, supaya kandungan senyawa metabolit sekunder pada *H. atra* terekstrak secara keseluruhan (Indarto *et al.*, 2019). Ekstrak *H. atra* yang dihasilkan adalah 7,261 g dengan rendemen yang dihasilkan yaitu 2,42% dan berwarna merah. Warna merah pada ekstrak etanol *H. atra* diduga karena adanya pigmen yang termasuk

senyawa triterpenoid yang terkandung di dalamnya (Damanik *et al.*, 2019). Oleh karena itu, untuk membuktikan dugaan tersebut dilakukan skrining spektrofotometri dan uji fitokimia.

3.2 Skrining pigmen

Penentuan serapan maksimum pigmen pada ekstrak etanol *H. atra* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 200-700 nm.



Gambar 1. Grafik serapan optimum melanin ekstrak *H. atra*

Berdasarkan Gambar 1, hasil *scanning* serapan optimum spektrofotometer UV-Vis pada ekstrak etanol *H. atra* dengan puncak serapan tertinggi berada pada panjang gelombang optimum 230 nm dengan absorbansi 4,627. Puncak serapan pada 230 nm adalah puncak serapan yang berada pada daerah UV, dengan absorbansi yang semakin meningkat pada panjang gelombang tersebut. Puncak dari serapan optimum yang dihasilkan adalah serapan optimum dari pigmen melanin. Hal ini, karena melanin memiliki serapan optimum pada daerah UV dengan panjang gelombang 200-300 nm (Madhusudhan *et al.*, 2014). Mbonyiryivuze *et al.* (2015) melaporkan spektra pada sepia melanin dengan puncak 220 nm dan puncak kedua 270 nm dalam pelarut *ultrapure water* dengan pH 10.93. Dari hasil pengamatan tersebut terdapat perbedaan puncak serapan dengan hasil yang didapat. Hal ini menandakan adanya pergeseran pola spektra dikarenakan perbedaan pelarut. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol, sesuai dengan penelitian Rahmalia *et al.* (2014) yang melaporkan perubahan spektra akibat interaksi antara variasi pelarut dan pigmen alami. Pigmen melanin yang ditemukan pada *H. atra* ada golongan polifenol dari senyawa penolik yang memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antibiotik dan antiviral (Putranti, 2014). Pigmen melanin yang ditemukan pada *H. atra* memiliki

sifat yang mudah larut dalam air. Pigmen melanin yang larut air memiliki potensi komersial untuk diaplikasikan dalam bidang bioteknologi (Madhusudhan *et al.*, 2014). Pigmen tersebut terutama dimanfaatkan dalam berbagai macam obat-obatan, melindungi kulit dari sinar radiasi UV dan sebagai bahan kimia, akan tetapi produksi melanin berlebihan dapat menyebabkan toksisitas melanosit seperti hiperpigmentasi (Putri *et al.*, 2018).

3.3 Uji fitokimia

Uji fitokimia pada ekstrak etanol *H. atra* terdiri dari uji flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, tanin steroid dan triterpenoid. Pengujian fitokimia dilakukan untuk menentukan senyawa metabolit sekunder pada *H. atra*.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia pada ekstrak *H. atra*

Uji fitokimia	Preaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	Mg + HCl pekat	+	Merah
Fenolik	FeCl ₃ 5%.	+	Jingga
Saponin	Air + HCl	+	Busa
Alkaloid	Wagner	+	kecoklatan
	Meyer	+	Putih kekuningan
	Dragendorff	+	Merah bata
Steroid	Liebermann-Burchard	-	Hijau kehitaman
			Tidak terbentuk warna hijau
Terpenoid	Liebermann-Burchard	+	Biru
			Merah

3.4 Uji sitotoksik

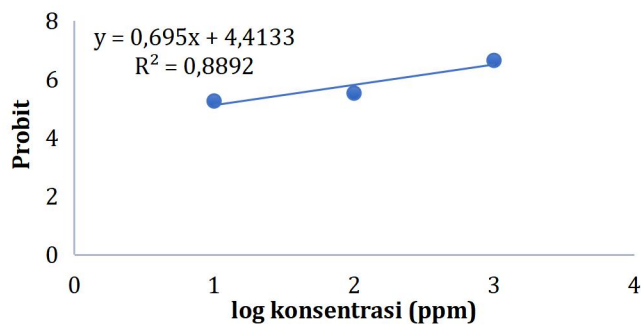
Uji sitotoksik pada ekstrak etanol *H. atra* dilakukan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode pengujian ini digunakan untuk mencari produk alam yang memiliki potensial sebagai anti kanker menggunakan hewan uji *A. salina* yang dikatakan toksik jika $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ (Aras, 2013). Berdasarkan Tabel 1. senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada ekstrak *H. atra* positif flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Halimatushadyah *et al.* (2018) dijelaskan bahwa ekstrak etanol *H. atra* mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Selain itu, Dhinakaran & Lipton (2014) juga menjelaskan ekstrak *H. atra* mengandung flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan triterpenoid. Senyawa flavonoid bermanfaat dalam melindungi struktur sel, antiinflamasi, meningkatkan efektifitas vitamin C, dan sebagai antibiotik (Ikalinus *et al.*, 2015). Senyawa fenolik memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antitrombotik, antivirus, antikanker dan antialergi

serta memiliki aktivitas antioksidan (Hasim *et al.*, 2019). Saponin pada *H. atra* dilaporkan memiliki potensial yang luas termasuk sitotoksik dan antikanker (Patantis, 2017). Alkaloid berperan sebagai aktivator yang kuat pada sel imun karena dapat menghancurkan virus, bakteri, jamur dan sel kanker (Pranoto *et al.*, 2012). Triterpenoid pada ekstrak *H. atra* kaya akan glikosida yang memiliki aktivitas antitumor dan antijamur dengan cara mengganggu membran sel dan menghambat sintesis protein jamur (Septiadi *et al.*, 2013).

Tabel 2. Kematian larva *A. salina*

No	Konsentrasi (ppm)	Replikasi		Jumlah kematian	Persentase (%)	Log (ppm)	Probit	LC ₅₀ (ppm)
		1	2					
1.	10	6	6	12	60	1	5,25	6,985
2.	100	7	7	14	70	2	5,52	
3.	1000	9	10	19	95	3	6,64	
4.	Kontrol	0	0	-	-	-	-	

Pada Tabel 2, menunjukkan bahwa kematian larva *A. salina* pada konsentrasi 10 ppm menghasilkan persentase kematian 60%, pada konsentrasi 100 ppm persentase menunjukkan kematian yaitu 70%, sedangkan pada konsentrasi 1000 ppm menghasilkan kematian 95%. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi yang digunakan mempengaruhi tingkat ketoksikan dari ekstrak. Kematian larva *A. salina* berkaitan dengan fungsi dari senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan flavonoid dalam ekstrak yang dapat menghambat daya makan larva. Senyawa-senyawa tersebut bertindak sebagai racun yang masuk ke dalam tubuh larva dengan mengganggu pencernaannya dan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva (Hafidloh, 2014). Teripang *H. atra* ketika terkena gesekan mengeluarkan cairan berwarna merah yang merupakan senyawa holothurin untuk pertahanan diri dalam kondisi terancam (Aziz, 1995; Chairunnisa, 2012). Oleh karena itu, senyawa holothurin pada teripang *H. atra* mempunyai sifat yang toksik. Senyawa holothurin pada *H. atra* berhubungan dengan adanya senyawa metabolit sekunder yaitu triterpenoid glikosida.



Gambar 2. Grafik hubungan probit dan log konsentrasi

Berdasarkan Gambar 2. grafik linear pada analisis probit vs log konsentrasi digunakan untuk menentukan LC_{50} dengan persamaan $y = 0,695x + 4,4133$ dan nilai korelasi yaitu $R^2=0,8892$. Persamaan $y = 0,695x + 4,4133$ pada grafik digunakan untuk menghitung nilai toksisitas dari ekstrak *H. atra* terhadap hewan uji. Hasil analisis probit dalam pengujian toksisitas pada ekstrak *H. atra* diperoleh LC_{50} yaitu 6,985 $\mu\text{g}/\text{mL}$ termasuk ke dalam kategori sangat toksik, karena memiliki nilai $LC_{50}<30$ ppm. Senyawa holothurin pada *H. atra* menyebabkan aktivitas toksisitas yang dihasilkan sangat tinggi yang berkaitan dengan fungsi dari senyawa metabolit sekunder. Salah satunya berhubungan erat dengan senyawa saponin yang terdapat pada dinding tubuh dan organ dalam *H. atra* yang bersifat toksik. Ekstrak *H. atra* dengan $LC_{50}<1000$ $\mu\text{g}/\text{mL}$ memiliki potensi aktivitas sitotoksik yang dapat dikembangkan sebagai bahan obat (Kilungga *et al.*, 2019). Selain itu, toksisitas ekstrak *H. atra* terhadap larva *A. salina* dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut yaitu berupa isolasi senyawa untuk mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai kandidat anti kanker sehingga dapat dikembangkan dalam penemuan obat anti kanker (Mangirang *et al.*, 2019). Halimatushadyah *et al.* (2018) melaporkan bahwa ekstrak etanol *H. atra* memiliki aktivitas sitotoksik yang mampu menghambat pertumbuhan pada sel kanker HeLa, WiDr dan T77D dan mampu menginduksi sel kanker tersebut.

4. Kesimpulan

Pigmen yang ditemukan pada ekstrak etanol *H. atra* yaitu pigmen melanin yang larut air dengan serapan optimum 230 nm. Ekstrak etanol *H. atra* mengandung senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari flavonoid, alkaloid, saponin, fenolik dan triterpenoid. Disamping itu, toksistas dari ekstrak *atra* dengan metode BSLT dengan nilai LC_{50} adalah 6,985 ppm dan dikategorikan sangat toksik karena <30 ppm. Tingkat toksisitas yang tinggi dipengaruhi oleh adanya senyawa holothurin dari teripang *H. atra* yang bersifat toksik yang berhubungan dengan fungsi dari senyawa metabolit sekunder.

Daftar pustaka

- Aras, T. R. (2013). *Uji Toksisitas Ekstrak Teripang Holothuria Scabra terhadap Artemia Salina*. (Skripsi), Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Aziz, A. (1995). Beberapa Catatan tentang Teripang Bangsa Aspidochirotida. *Oseana*, 20(4), 11-23.
- Chairunnisa, N. (2012). *Uji Potensi Ekstrak Kasar Teripang Holothuria Atra Jaeger Sebagai Pencegah Kanker Melalui Uji Mikronukleus Terhadap Sumsu Tulang Mencit (Mus Musculus L.) Jantan Galur DDY*. (Skripsi), Biologi. Universitas Indonesia Jakarta.
- Damanik, S. R., Yulianto, B., & Subagiyo, S. (2019). Potensi Ekstrak Kasar Teripang Holothuria atra, Jaeger, 1833 (Holothuroidea: Holothuriidae) Dari Pulau Panjang, Jepara. *Journal of Marine Research*, 8(3), 262-268. doi:<https://doi.org/10.14710/jmr.v8i3.25272>

- Dhinakaran, D. I., & Lipton, A. P. (2014). Bioactive Compounds from *Holothuria Atra* of Indian Ocean. *SpringerPlus*, 3, 673. doi:<https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-673>
- Firdaus, R., Ardiningsih, P., & Arreneuz, S. (2015). Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothuria leucospilota*) dari Pulau Lemukutan Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(4), 7-14.
- Hafidloh, D. (2014). *Sitotoksik Ekstrak Daun Bunga Matahari (Helianthus Annus L) dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya*. (Skripsi), Kimia. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Halimatushadyah, E., Da'i, M., & Nursid, M. (2018). Sitotoksitas dan Induksi Apoptosis Ekstrak Etanol Teripang *Holothuria Atra* Jaeger, 1833 pada Beberapa Sel Kanker. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 13(2), 101-110. doi:10.15578/jpbkp.v13i2.536
- Handayani, T., Sabariah, V., & Hambuako, R. R. (2017). Komposisi Spesies Teripang (Holothuroidea) di Perairan Kampung Kapisawar Distrik Meos Manswar Kabupaten Raja Ampat. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 19(1), 45-51.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi Ke-2*. Bandung: ITB Press.
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86-93. doi:<https://doi.org/10.17728/jatp.4201>
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71-79.
- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologis*, 10(1), 67-78. doi:<https://doi.org/10.24042/biosfer.v10i1.4102>
- Kilungga, A., Chrystomo, L. Y., & Sujarta, P. (2019). Skrining Senyawa Kimia Ddan Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Teripang Kridou Bintik (*Bohadschia Argus Jeager*) Asal Pantai Harlem Kabupaten Jayapura, Papua. *Jurnal Biologi Papua*, 11(1), 12-17. doi:10.31957/jbp.633
- Lewerissa, Y. A. (2014). Studi Ekologi Sumberdaya Teripang di Negeri Porto Pulau Saparua Maluku Tengah. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*, 1(1), 32-42. doi:<https://doi.org/10.30598/biopendixvol1issue1page32-42>
- Madhusudhan, D., Mazhari, B. B. Z., Dastager, S. G., & Agsar, D. (2014). Production and Cytotoxicity of Extracellular Insoluble and Droplets of Soluble Melanin by *Streptomyces Lusitanus* DMZ-3. *BioMed Research International*, 2014, 1-11. doi:<https://doi.org/10.1155/2014/306895>
- Mangirang, F., Maarisit, W., Mongi, J., Lengkey, Y., & Tulandi, S. (2019). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pare *Momordica charantia* Linn Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 22-27.
- Mbonyiryivuze, A., Omollo, I., Ngom, B. D., Mwakikunga, B., Dhlamini, S. M., Park, E., & Maaza, M. (2015). Natural Dye Sensitizer For Grätzel Cells: Sepia Melanin. *Physics Material Chemistry*, 3(1), 1-6.
- Patantis, G. (2017). *Collagen-Stimulating Activity of Australian Sea Cucumber (Holothuria Atra) Extracts on Human Skin Fibroblast Cells*. (Thesis), Medical Biotechnology. Flinders University of South Australia
- Pranoto, E. N., Ma'ruf, W. F., & Pringgenies, D. (2012). Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) terhadap Jamur *Candida Albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 1(1), 18-25.
- Putranti, R. I. (2014). *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpuk Laut Sargassum Duplicatum dan Turbinaria Ornata dari Jepara*. (Thesis), Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro Semarang.

- Putri, W. E., Kurniawati, Y., & Djauhari, T. (2018). Depigmenting Agent Melanotoksik pada Pengobatan Melasma. *Medical Health Science Journal*, 2(2), 23-31. doi:<https://doi.org/10.33086/mhsj.v2i2.584>
- Rahmalia, W., Fabre, J.-F., Usman, T., & Mouloungui, Z. (2014). Aprotic Solvents Effect on The UV-Visible Absorption Spectra of Bixin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Biomolecular Spectroscopy*, 131(2014), 455-460. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.03.119>
- Rudianto, A., Dewi, Y. S., & Burhanuddin, B. (2020). Ecotourism Development of Snorkeling and Diving Activity Toward Coral Reef Habitats in The Lemukutan Island of Bengkayang Regency. *Aquasains: Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*, 8(2), 795-808. doi:<http://dx.doi.org/10.23960/aqs.v8i2.p795-808>
- Ruliyansyah, A. (2016). Evaluasi Potensi Wisata Alam Pulau Lemukutan Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat. *Jurnal Arsitektur Lengkap*, 2(1), 51-61. doi:<https://doi.org/10.24843/JAL.2016.v02.i01.p06>
- Satria, G. G. A., Sulardiono, B., & Purwanti, F. (2014). Kelimpahan Jenis Teripang Di Perairan Terbuka dan Perairan Tertutup Pulau Panjang Jepara, Jawa Tengah. *Management of Aquatic Resources Journal (Maquares)*, 3(1), 108-115. doi:<https://doi.org/10.14710/marj.v3i1.4427>
- 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*. *Journal of Marine Research*, 2(2), 76-84. doi:<https://doi.org/10.14710/jmr.v2i2.2355>
- Umboh, P. M. T. (2018). Aktivitas Antibakteri Fraksi Teripang Laut *Holothuria Atra* terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(4), 88-97. doi:<https://doi.org/10.35799/pha.7.2018.21429>
- Xing, L., Sun, L., Liu, S., Li, X., Miao, T., Zhang, L., & Yang, H. (2017). Comparison of Pigment Composition and Melanin Content among White, Light-Green, Dark-Green, And Purple Morphs of Sea Cucumber, *Apostichopus Japonicus*. *Acta Oceanologica Sinica*, 36(12), 45-51. doi:[10.1007/s13131-017-1056-5](https://doi.org/10.1007/s13131-017-1056-5)
- Yuliana, Y. (2016). Isolasi Senyawa Bioaktif Antibakteri pada Ekstrak Etanol Teriang Pasir (*Holothuria Scabra*) Di Kepulauan Selayar. *Al-Kimia*, 5(1), 71-80. doi:<https://doi.org/10.24252/al-kimia.v5i1.2340>