

JURNAL

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TERIPANG KELING
(*Holothuria atra*) TERHADAP BAKTERI
*Pseudomonas aeruginosa***

OLEH

**ADLITA ESKA PUTRI
NIM: 1404111271**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TERIPANG KELING
(*Holothuria atra*) TERHADAP BAKTERI
*Pseudomonas aeruginosa***

Oleh:

Adlita Eska Putri¹⁾, Mery Sukmiwati²⁾, Mirna Ilza²⁾

Email: adlita.putri@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif teripang keling dan aktivitas antibakteri ekstrak teripang keling terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif yaitu ekstraksi dengan metanol, uji fitokimia, fraksinasi dengan larutan heksana, butanol dan etil asetat, dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100%. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Dari hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol teripang keling terdeteksi mengandung senyawa bioaktif berupa komponen steroid/terpenoid, saponin, alkaloid dan fenol. Dan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol teripang keling terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diameter zona hambat berkisar dari 8,61-12,25mm dan dari tiga jenis fraksi yang digunakan ekstrak fraksi heksana memiliki potensi antibakteri yang lebih dominan dengan diameter zona hambat berkisar 13,46-14,63mm. Berdasarkan hasil penelitian bahwa ekstrak methanol teripang keling memiliki potensi sebagai antibakteri.

Kata kunci: Antibakteri, Ekstrak, Komponen bioaktif, Fraksi

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

**TESTING of ANTIBACTERIAL ACTIVITY of EXTRACTS of SEA
CUCUMBER (*Holothuria atra*) against BACTERIA *Pseudomonas
aeruginosa***

By:

Adlita Eska Putri¹⁾, Mery Sukmiwati²⁾, Mirna Ilza²⁾

Email: adlita.putri@gmail.com

ABSTRACT

This research aims to know the sea cucumber *Holothuria atra* bioactive compounds and antibacterial activity of sea cucumber *Holothuria atra* extract against bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. The methods used in this research is descriptive method i.e. extraction with methanol, test of phytochemicals, fractionation with a solution of butanol, hexane and ethyl acetate, and test the antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria using diffusion method with concentrations of 50%, 75% and 100%. The data obtained are presented in the form of tables and images. Results showed extracts of methanol the sea cucumber *Holothuria atra* detected compounds containing bioactive i.e. component steroids or Terpenoids, alkaloids, saponins and phenolic. The test results and the antibacterial activity the extracts of methanol the sea cucumber *Holothuria atra* against bacteria *Pseudomonas aeruginosa* diameter inhibition of bacteria ranged from 8,61 to 12,25mm and of three types of fractions used hexane fraction has a more dominant antibacterial potency with diameter inhibition of bacteria ranged from 13,46 to 14,63mm. Based on the results of research that the methanol extract of sea cucumber *Holothuria atra* has potential as an antibacterial.

Keywords: Antibacterial, Extracts, Bioactive Components, Faction

¹ Student of Fisheries and Marine Faculty, the University of Riau

² Lecturer of Fisheries and Marine Faculty, the University of Riau

PENDAHULUAN

Teripang merupakan biota laut yang memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah teripang keling (*Holothuria atra*). Senyawa bioaktif pada *H. atra* berpotensi untuk digunakan sebagai antibakteri dan antijamur. Potensi antibakteri berasal dari beberapa senyawa diantaranya steroid, terpenoid, dan saponin. Menurut Abdallah dan Hassan (2012), *echinodermata* telah dan terus diteliti sebagai sumber senyawa bioaktif. Senyawa tersebut terutama diisolasi dari teripang dan bintang laut sebagai antitumor, antivirus, antikoagulan, antikanker, antimikroba, dan antioksidan.

Menurut Pelczar dan Chan (2005), teripang *H. atra* mengandung senyawa yang berperan sebagai antibakteri, antibakteri merupakan senyawa yang mampu menghambat aktivitas dari bakteri patogen. Senyawa bioaktif dapat digunakan sebagai antibakteri, sehingga dapat mengawetkan makanan, mengurangi resiko keracunan pangan karena dapat menghambat bakteri patogen (Pelczar dan Chan, 2005).

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit dan menyebar dengan berbagai cara, salah satunya yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Menurut Mayasari (2006) *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang resisten terhadap beberapa bahan antimikroba yang ada, hal ini disebabkan penggunaan bahan antimikroba yang tidak tepat dan penggunaan antibiotik secara tidak rasional merupakan salah satu faktor penting penyebab resistensi antibiotik

Hal tersebut membuat banyak pakar dan para peneliti mencari alternatif antibiotik yang berasal dari alam. Dan dikarenakan teripang keling memiliki potensi sebagai antibakteri, penulis pun tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak teripang keling terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang keling dari Pantai Cerocok Sumatra Barat, biakan murni *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (IPB), media NA (*Nutrient Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), antibiotik *Kloramfenikol*, *methanol*, *n-heksana*, *n-butanol*, *etil asetat*, *asam sulfat pekat*, *asam klorida pekat*, *Klorofoam*, *amoniak*, *klorida*, *perekasi Mayer*, *perekasi Liebermann Bouchard*, *natrium sulfat anhidrat*, *aquades*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoklaf*, *rotary evaporator*, *Laminar air Flow*, *incubator*, *blender*, *timbangan digital*, *labu Erlenmeyer*, *gelas beaker*, *tabung reaksi*, *cawan petri*, *aluminium foil*, *gelas ukur*, *mikropipet*, *penggaris*, *jarum ose*, *batang L*, *lampu Bunsen*, *saringan*, dan *kertas saring*.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap yaitu ekstraksi dengan maserasi, uji metabolik sekunder, difraksinasi dengan heksana, etil asetat, dan butanol, selanjutnya pengujian aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100%, kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif metanol. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan dan dianalisis secara deskriptif.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi dan fraksinasi

Ekstraksi dilakukan pada teripang Keling dengan metode maserasi (Harbone 2006). Teripang yang sudah dirajang halus sebanyak 600g dimaserasi dengan pelarut metanol selama 3 hari dengan 3 kali ulangan dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:3. Maserat yang didapat dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kasar, yang kemudian diuji metabolik sekunder meliputi komponen flavonoid, saponin, tannin, alkaloid dan triterpenoid.

Ekstrak kental methanol difraksinasi menggunakan corong pisah dengan pelarut yang berbeda, fraksi diawali dengan pelarut non polar *n*-heksana sebanyak 4 kali 200 ml, sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi aquades. Fraksi *n*-heksana dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak fraksi *n*-heksana. Fraksi aquades selanjutnya difraksinasi dengan etil asetat, sebanyak 4 kali 200 ml sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi aquades. Fraksi etil asetat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak fraksi etil asetat. Fraksi air selanjutnya difraksinasi dengan *n*-butanol sehingga diperoleh sebanyak 4 kali 200 ml, sehingga diperoleh dua fraksi, yaitu fraksi *n*-butanol dan fraksi sisa. Fraksi *n*-butanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak fraksi *n*-butanol. Selanjutnya dihitung setiap rendeman yang dihasilkan dan dilakukan uji aktivitas antibakteri.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan melalui metode difusi yang mengacu pada penelitian Sukmiwati *et al.*, (2014). Mikroba uji yang digunakan *Pseudomonas aeruginosa*, sampel suspensi mikroba sebanyak 100 µL dipipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril, media NA ditambahkan sebanyak 12 mL, kemudian cawan petri digoyang hingga homogen dan biarkan memadat. Dengan menggunakan kontrol positif kloramfenikol larutan uji sebanyak 10 µL diteteskan pada kertascakram steril, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Dan dilakukan pengujian antibakteri dengan sampel ekstrak teripang keling, ekstrak fraksi heksana, ekstrak fraksi butanol dan ekstrak fraksi etil asetat dengan masing-masing konsentrasi 50%, 75% dan 100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Metabolit Sekunder Teripang Keling

Hasil pengujian kandungan metabolik sekunder terhadap ekstrak kental methanol teripang keling disajikan pada Tabel 1. Hasil uji kandungan metabolik sekunder dari ekstrak methanol teripang keling

menunjukkan bahwa teripang keling mengandung golongan senyawa steroid, terpenoid, saponin, alkaloid dan fenol, ditunjukkan dengan hasil uji positif.

Tabel 1. Hasil uji metabolit sekunder ekstrak methanol teripang keling

Kandungan Kimia	Hasil Uji
Alkaloid	++
Flavonoid	-
Fenol	+
Steroid/Terpenoid	++++
Saponin	++

Keterangan: + Ada Kandungan, - Tidak Ada Kandungan

Senyawa alkaloid terdapat pada ekstrak teripang keling diketahui karena terbentuknya warna merah/jingga setelah ekstrak teripang keling diberi pereaksi dragendorff dan pereaksi mayer, serta adanya endapan putih pada pereaksi mayer. Senyawa alkaloid ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga sel pun hanya meliputi membran sel (Retnowati *et al.*, 2011).

Ekstrak teripang keling yang diberi larutan FeCl 1% terbentuk larutan berwarna biru ungu, menandakan positif mengandung senyawa fenolik, senyawa fenol memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel. Menurut Damayanti dan Suparjana (2007), golongan fenol mampu merusak membran sel, menonaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan karena penurunan permeabilitas.

Ekstrak teripang keling yang diberi reaksi lebermen-burchat terbentuknya warna biru sampai ungu menunjukkan sampel positif mengandung senyawa steroid sedangkan warna merah menunjukkan sampel positif mengandung senyawa triterpenoid. Dari hasil pengujian didapatkan Senyawa steroid dan triterpenoid memiliki kandungan senyawa yang kuat, seperti yang dijelaskan oleh Farouk *et al.*, (2007) senyawa metabolit sekunder

yang terdapat pada *H. scabra* yaitu merupakan senyawa golongan terpenoid dan turunannya seperti steroid dan triterpenoid. Senyawa tersebut memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membrane sel bakteri sehingga sel tersebut rusak.

Untuk senyawa saponin, ekstrak teripang diberi H₂O dan terdapat busa pada sampel ekstrak teripang keling, hal ini menandakan positif mengandung senyawa saponin. Dimana mekanisme penghambatan senyawa saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel. Menurut Hardiningtyas (2009), saponin merupakan golongan senyawa yang dapat menghambat atau membunuh mikroba dengan cara bereaksi dengan membrane sterol, efek utama saponin terhadap bakteri adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel. Oleh sebab itu, saponin merupakan golongan senyawa yang aktif dalam menghambat pertumbuhan sel.

Aktivitas Antibakteri

Hasil uji zona hambat aktivitas antibakteri berdasarkan diameter zona hambat dari ekstrak teripang keling, ekstrak fraksi heksana, ekstrak fraksi butanol dan ekstrak fraksi etil asetat terhadap bakteri *Pseudomas aureginosa* disajikan pada Tabel 2.

Dapat diketahui bahwa ekstrak teripang keling memiliki daya hambat bakteri dengan diameter zona hambat nya sebesar $12,25 \pm 0,05$ mm pada konsentrasi 100% , hal ini menunjukkan bahwa ekstrak teripang keling berpotensi sebagai antibakteri dan berdasarkan penilai aktivitas zat antibakteri menurut Lathifah (2008), dikategorikan kuat. Lalu untuk diameter zona hambat ekstrak teripang keling pada berbagai fraksi terhadap bakteri *Pseudomas aeruginosa*, fraksi heksana memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dengan diameter zona hambat nya sebesar $14,63 \pm 0,03$ mm konsentrasi 100%, fraksi butanol memiliki diameter zona hambat sebesar $7,86 \pm 0,01$ mm konsentrasi 100% dan fraksi etil asetat memiliki diameter zona hambat sebesar $7,45 \pm 0,02$ mm konsentrasi 100%, dimana fraksi butanol dan fraksi etil

asetat dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri yang sedang.

Untuk kloramfenikol sebagai kontrol positif membentuk zona hambat terbesar dengan diameter rata-rata sebesar $33,17 \pm 0,53$ mm pada konsentrasi 100% dan memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kuat berdasarkan penilaian aktivitas zat antibakteri dan methanol sebagai kontrol negatif membentuk zona hambat sebesar $0,63 \pm 0,06$ mm. Terlihat bahwa konsentrasi bahan uji mempengaruhi daya hambat pertumbuhan bakteri, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan untuk bahan uji maka zona hambat yang terbentuk semakin luas.

Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi dapat disebabkan oleh adanya perbedaan besar kecilnya konsentrasi atau banyak dan sedikitnya kandungan zat aktif antibakteri yang terkandung dalam ekstrak serta kecepatan difusi bahan antibakteri dalam medium agar. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak pula kandungan zat aktif didalamnya sehingga memiliki laju difusi yang lebih besar (Sukmiwati *et al.*, 2014).

Adanya perbedaan aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh jumlah kandungan metabolik sekunder yang terkandung dalam sampel. Menurut Pleczar dan Chan (2008), untuk dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel dimana dinding sel tersusun atas protein, polisakarida dan peptidoglikan.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak teripang keling dan ekstrak fraksi teripang keling terhadap bakteri *Pseudomas aeruginosa*

Ekstak dan Fraksi	Diameter Zona Hambat		
	50% (mm)	75% (mm)	100% (mm)
Ekstrak teripang keeling	8,61 ± 0,03	10,25 ± 0,02	12,25 ± 0,05
Fraksi heksana	12,60 ± 0,02	13,46 ± 0,01	14,63 ± 0,03
Fraksi butanol	5,35 ± 0,02	6,36 ± 0,01	7,86 ± 0,01
Fraksi etil asetat	5,28 ± 0,01	6,70 ± 0,02	7,45 ± 0,02
Kontrol (+)	27,45 ± 0,66	28,15 ± 0,63	33,17 ± 0,53
Kontrol (-)	0,22 ± 0,03	0,46 ± 0,08	0,63 ± 0,06

Keterangan: Kontrol (+): Kloromfenikol, Kontrol(-):Metanol

Dari pengujian aktivitas antibakteri yang pertama di gunakan sampel ekstrak teripang keling dan didapatkan zona bening sebesar 12,25 ± 0,05mm pada kosentrasi 100% hal ini menunjukkan bahwa ekstrak teripang keling berpotensi sebagai antibakteri. Lalu digunakan tiga jenis fraksi dalam uji aktivitas antibakteri yaitu fraksi heksana, fraksi butanol, dan fraksi etil asetat, dimana fraksi heksana menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling tinggi pada kosentrasi 100% dan lebih dominan dari fraksi lainnya hal ini menunjukkan bahwa uji fraksi tersebut berpotensi sebagai antibakteri.

Dimana penelitian ini sejalan dengan Sukmiwati *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri maksimum dari 3 jenis fraksi yang digunakan ditunjukan oleh fraksi n-heksan pada kosentrasi 1.000µg/mL ekstrak metanol teripang dengan nilai rata-rata zona hambat hampir mendekati 13mm.

Perbedaan aktivitas masing-masing bahan uji terhadap bakteri juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan komposisi dan struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal (20-80 nm) sehingga pertahannya lebih kuat dan sulit untuk dirusak oleh komponen metabolik sekunder sedangkan gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis (5-10nm) akan lebih sensitif atau mudah dirusak oleh komponen-komponen metabolik sekunder yang mempunyai potensi merusak atau

menghambat sintesis dinding sel (Sukmiwati *et al.*, 2014).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak methanol teripang keling memiliki kandungan metabolik sekunder yang berpotensi sebagai aktibakteri. Setelah dilakukan pengujian didapatkan ekstak methanol teripang keling memiliki zona hambat sebesar 12,25±0,05mm pada kosentrasi 100% dan untuk fraksi ekstrak teripang keling dari tiga jenis fraksi yang digunakan, fraksi heksana menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling tinggi pada kosentrasi 100% dan lebih dominan dari fraksi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa uji ekstrak teripang keling berpotensi sebagai antibakteri.

Saran

Berdasarkan penelitian ini penulis menyarankan penelitian lebih lanjut tentang uji khasiat biologis dari teripang *Holothuria atra* untuk mengetahui manfaat secara ilmiah yang lebih luas. Dan pengujian aktivitas antibakteri dengan bakteri lain yang bersifat patogen.

DAFTAR PUSTAKA

Abdallah, H. dan H. Ibrahim. 2012. Antibacterial Carotenoids of Three *Holothuria* Species in Hurghada,

- Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38:185-194.
- Damayanti, E. dan T.B. Suparjana. 2007. Efek Penghambatan Beberapa Fraksi Ekstrak Buah Mengkudu Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Yogyakarta : 46.
- Farouk, A.E., Faizal A.H.G., dan Ridzwan B. H. 2007. *New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity*. [American Journal of Biochemistry and Biotechnology]. 64-69 hlm.
- Harborne, J. B . 2006. Metode fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB, Bandung.
- Hardiningtyas, S. D. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton sp.* yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. Institut Pertanian Bogor, Bogor, 67 Hlm.
- Lathifah. 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoabilimbi L.*) Dengan Variasi Pelarut. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Mayasari, E. 2006. *Pseudomonas aeruginosa*: karakteristik, infeksi dan penanganan. Sumatera Utara: USU Repository.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1* Hadioetomo *et al.* Penerjemah. Jakarta (ID): UIPress .Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- . *Dasar-dasar Mikrobiologi 2* Hadioetomo *et al.* Penerjemah. Jakarta (ID): UIPress. Terjemahan dari :*Elements of Microbiology*.
- Retnowati, Y., N. Bialangi, dan N.W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*, 6(2).
- Sukmiwati, M. Diharmi, A. Mora, E. dan Susanti, E. 2014. Aktivitas Antimikroba Teripang *Kasur (Stichopus Vastus Sluiter)* Dari Perairan Natuna Kepulauan Riau. *JPHPI*. 21 (2): 1-

