

**KAJIAN SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK TERIPANG HITAM (*Holothuria edulis*)
BASAH DAN KERING SEBAGAI ANTIBAKTERI ALAMI**

*The Study of Bioactive Compound Extract of Wet and Dry Black Sea Cucumber (*Holothuria edulis*)
as a Natural Antibacterial*

Evi Maya Sari, Widodo Farid Maruf^{*}, Sumardianto

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Perikanan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,
Jln. Prof. Soedarto, SH, Semarang, 50275, Telp/fax: (024) 7474698
Email : evimayasarii@yahoo.com

ABSTRAK

Holothuria edulis merupakan salah satu sumber hayati laut yang mempunyai banyak manfaat dan memiliki senyawa bioaktif. Tujuan dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif dan daya hambat terbaik ekstrak *H. edulis* basah dan kering serta pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut dan keadaan sempel sebagai aktivitas antibakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil dari penelitian didapatkan bahwa ekstrak etil asetat *H. edulis* dalam keadaan basah dengan konsentrasi 450µg/ml merupakan ekstrak terbaik. Hasil dari ekstrak *H. edulis* basah menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi dengan daya hambat bakteri terluas pada bakteri *B. cereus* 2.8±0.2 mm dan *P. aeruginosa* yaitu 8.6±0.2 mm, sedangkan pada *H. edulis* kering pada *B. cereus* 1.7±0.1 mm dan *P. aeruginosa* yaitu 5.5 ±0.2 mm. Berdasarkan uji fitokimia dari ekstrak *H. edulis* basah dan kering positif mengandung alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, dan saponin.

Kata Kunci: *H. edulis* basah dan kering, Senyawa bioaktif, Antibakteri, *B. cereus*, *P. aeruginosa*

ABSTRACT

Holothuria edulis is one of marine resources that has many benefit and have bioactive compounds. The purpose of this research was to determine the content of bioactive compounds and the best extract inhibition of wet and dry *H. edulis* as well as the influence of the different solvent concentration and sample condition as the antibacterial activity of *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Results of the research found that the best extracts of *H. edulis* is ethyl acetate extract of wet *H. edulis* in 450 µg/ml concentration. Results extracts of wet *H. edulis* show that the highest antibacterial activity with the wide blocked power on *B. cereus* is 2.8 ± 0.2 mm and *P. aeruginosa* is 8.6 ± 0.2 mm, meanwhile in dry *H. edulis* on *B. cereus* is 1.7 ± 0.1 mm and *P. aeruginosa* is 5.5 ± 0.2 mm. Based on phytochemicals test of wet and dry *H. edulis* extracts positive contains alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid and saponin.

Keywords: Wet and Dry *H. edulis*, Bioactive Compounds, Antibacterial, *B. cereus*, *P. aeruginosa*

^{*}) Penulis Penanggungjawab

1. PENDAHULUAN

Laut di Indonesia memiliki beragam mahluk hidup baik berupa tumbuhan air maupun hewan air. Salah satu mahluk hidup yang tumbuh dan berkembang didalam laut adalah teripang atau ketimun laut (*sea cucumber*). Menurut Hartati *et al.* (2009), teripang atau ketimun laut (*sea cucumber*) merupakan salah satu sumber hayati laut yang penting dan yang banyak manfaatnya. Teripang seringkali dimanfaatkan sebagai bahan makan dan obat-obatan yang merupakan komoditi ekspor yang potensial.

Berdasarkan penelitian yang termasuk genus *Holothuria* telah terbukti memiliki senyawa bioaktif sebagai agen antibakteri yang potensial. Hasil dari penelitian Farouk *et al. dalam* Nimah (2012), menyatakan bahwa aktivitas antibakteri pada teripang jenis *Holothuria scabra* yang terbukti berpotensi sebagai antibakteri diantaranya *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Bakteri *B. cereus* dan *P. aeruginosa* merupakan salah satu bakteri pembusuk yang terdapat pada ikan. Bakteri tersebut berpotensi menyebabkan pembusukan karena aktivitasnya dalam mendegradasi protein dan lipid, hal ini juga dapat menyebabkan perubahan pada bau, warna dan tekstur pada ikan. Berdasarkan uraian

diatas, sehingga perlu dilakukan penelitian kajian senyawa bioaktif ekstrak *H. edulis* basah dan kering sebagai antibakteri alami.

2. MATERI DAN METODE PENELITIAN

Materi

Bahan yang yang digunakan dalam penelitian adalah *Holothuria edulis* yang diambil dari perairan Karimun Jawa, Jepara. Tiga jenis pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat, dan n-heksan. Bahan lain yang digunakan adalah NA, NB, *B. cereus* dan *P. aeruginosa*, *paper disc*, asam klorida pekat, pereaksi dragendorf, pereaksi meyer, alkohol 70%, kloroform, anhidra asetat, asam sulfat pekat, ferri klorida, logam magnesium, plastik *wrap*, kloramfenikol dan alumenium foil.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah *autoclave*, petridisk, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, *erlenmeyer*, labu *round bottom flask*, *magnetic stirrer*, mikropipet, pipet ukur, *rotary evaporator*, tabung reaksi, timbangan analitik, *vial*, gelas rod, pinset, pisau dan gunting, jarum ose, *freezer*, pengaduk, corong, *laminary air flow*, *moistermeter portable*, dan blander.

Metode

Metode penelitan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *experimental laboratories*. Penelitian yang dilakukan meliputi beberapa tahap, antarlain persiapan sampel yaitu: bahan baku *H. edulis*, disiapkan dalam bentuk basah dan kering, untuk bahan baku kering dilakukan proses pengeringan terlebih dahulu. Setelah itu dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Proses pemekatan dengan *rotary evaporator*. Selanjutnya penelitian pendahuluan meliputi uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. edulis* basah dan kering untuk mengetahui pelarut terbaik.

Penelitian utama meliputi uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. edulis* basah dan kering dari pelarut terbaik dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda (150 µg/ml, 300 µg/ml, dan 450 µg/ml), uji kontrol negatif, uji kontrol positif, dan uji kandungan metabolit sekunder.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Sampel

H. edulis basah dengan kadar air 84,77% dan *H. edulis* kering dengan kadar air 13% dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi tunggal (berat masing – masing sampel 100 gr). Hal ini dikarenakan metode maserasi tunggal dapat mencegah pertumbuhan jamur pada saat proses maserasi berlangsung. Sesuai dengan pendapat Nofiani *et al.*, (2009), yang menyebutkan bahwa kelebihan metode maserasi tunggal mampu menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode lain (metode bertingkat). Selain itu maserasi tunggal juga mampu mencegah pertumbuhan jamur pada saat proses maserasi.

Filtrat hasil maserasi kemudian disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 38°C. Suhu yang digunakan tidak boleh lebih dari 40° C, hal ini dilakukan agar senyawa bioaktif tidak rusak karena pemanasan menggunakan suhu tinggi. Hasil ekstraksi *H. edulis* basah dan kering tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi *H. edulis* Basah dan Kering dengan Berbagai Pelarut

Keadaan Sampel	Pelarut	Volume Filtrat (ml)	Berat Ekstrak (gr)	Bentuk	Warna	Bau
<i>H. edulis</i> basah	Metanol	300	7,181	Pasta	Merah Kekuningan	Amis
	etil asetat	300	1,211	Pasta	Merah Kekuningan	Amis
	n-heksan	300	0,717	Cair	Coklat muda	Amis
<i>H. edulis</i> kering	Metanol	300	1,837	Pasta	Merah Kekuningan	Amis
	etil asetat	300	0,985	Pasta	Merah Kekuningan	Amis
	n-heksan	300	0,711	Cair	Coklat muda	Amis

Dilihat dari Tabel 1. hasil ekstraksi menunjukkan bahwa berat ekstrak *H. edulis* basah dari tiga jenis pelarut lebih besar daripada berat ekstrak *H. edulis* kering. Hal ini disebabkan *H. edulis* basah masih mempunyai sifat originalitas yang tinggi dengan kandungan air yang tinggi dibandingkan dengan *H. edulis* kering yang sifat originalitas yang telah berkurang karena terjadi proses pengeringan yang ditunjukkan dengan kadar air yang rendah sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan pada komponen senyawa bioaktif. Selain itu *H. edulis* kering mempunyai struktur tubuh yang lebih keras dibandingkan dengan *H. edulis* basah sehingga proses ekstraksi jauh menjadi lebih sulit. Hal ini sesuai dengan pendapat Novita (2013), rusaknya beberapa senyawa

yang terdapat didalam teripang karena beberapa komponen yang terkandung adalah komponen volatil selain itu struktur daging teripang kering lebih keras sehingga mempersulit proses ekstraksi.

Penelitian Pendahuluan

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *H. edulis*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. edulis* basah dan kering pelarut metanol, etil asetat, dan n-heksan pada penelitian pendahuluan inkubasi 24 dan 48 jam terhadap bakteri *B. cereus* dan *P. aeruginosa* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter Daya Hambat Ekstrak Metanol Etil Asetat, dan N-heksan *H. edulis* Basah dan Kering terhadap *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* setelah Inkubasi 24 dan 48 Jam (mm)

Jenis Pelarut	Bakteri Uji	Keadaan Sampel	Inkubasi (Jam)	Konsentrasi (µg/ml)		
				450	900	1350
Metanol	<i>B. cereus</i>	Basah	24	2.0 ± 0.1	2.2 ± 0.3	2.3 ± 0.4
			48	1.3 ± 0.5	1.9 ± 0.1	2.1 ± 0.3
		Kering	24	1.9 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.2 ± 0.3
			48	1.8 ± 0.6	2.0 ± 0.0	2.2 ± 0.3
	<i>P. aeruginosa</i>	Basah	24	4.1 ± 0.3	4.4 ± 0.3	4.5 ± 0.1
			48	4.0 ± 0.2	4.2 ± 0.3	4.4 ± 0.2
		Kering	24	3.8 ± 0.8	4.3 ± 0.3	4.6 ± 0.2
			48	3.7 ± 0.5	4.2 ± 0.2	4.3 ± 0.2
Etil asetat	<i>B. cereus</i>	Basah	24	2.7 ± 0.2	2.8 ± 0.3	3.1 ± 0.2
			48	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.7 ± 0.6
		Kering	24	2.3 ± 0.4	2.7 ± 0.6	2.8 ± 0.1
			48	2.0 ± 0.1	2.3 ± 0.6	2.5 ± 0.6
	<i>P. aeruginosa</i>	Basah	24	8.8 ± 0.3	9.0 ± 0.2	9.1 ± 0.3
			48	8.2 ± 0.3	8.4 ± 0.3	8.6 ± 0.5
		Kering	24	5.1 ± 0.3	5.6 ± 0.3	5.2 ± 0.1
			48	4.7 ± 0.4	5.0 ± 0.2	5.0 ± 0.0
N-heksan	<i>B. cereus</i>	Basah	24	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
			48	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
		Kering	24	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
			48	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	<i>P. aeruginosa</i>	Basah	24	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
			48	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
		Kering	24	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
			48	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Keterangan:

- Data tersebut telah dikurangi diameter *paper disc* 6 mm
- Data merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan ± standar deviasi

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa ekstrak *H. edulis* basah dan kering pelarut n-heksan tidak menghasilkan daya hambat dari ketiga konsentrasi baik pada inkubasi 24 dan 48 jam. Hal ini dikarenakan sifat dari pelarut n-heksan adalah hidrofobik, sifat tersebut tidak dapat berdifusi ke media agar karena penyusunan media agar karena penyusunan media agar itu adalah air. Berdasarkan laporan Hardiningtyas (2009), menjeaskan bahwa tingkat atau luasan aktivitas ekstrak pada kertas cakram tergantung pada laju difusi ekstrak pada media agar. Ekstrak mempunyai potensi bioaktivitas yang tinggi bisa saja memiliki sifat yang sukar berdifusi pada media sehingga diameter penghambat mikroba yang terbentuk kecil atau tidak ada.

Hasil dari ekstrak *H. edulis* basah dan kering pelarut metanol dan etil asetat terhadap bakteri *B. cereus* dan *P. aeruginosa* menunjukkan adanya perbedaan daya hambat pada setiap konsentrasi. Hal ini dikarenakan faktor yang menyebabkann perbedaan daya hambat antaralain tebal tipisnya media agar, kondisi murni kultur bakteri, suhu inkubasi, konsentrasi ekstrak dan kecepatan penyerapan panas inkubator pada tiap cawan dapat berbeda tergantung ketebalan cawan petri. Menurut Ernawati (2007), bahwa ukuran penghambat dipengaruhi oleh sensitivitas organisme media kultur, kondisi inkubasi dan kecepatan difusi agar. Kecepatan difusi agar dipengaruhi oleh konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu dan waktu inkubasi.

Penelitian Utama

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *H. edulis* Etil Asetat

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *H. edulis* dilakukan dengan metode permukaan (*surface / spread plate*). Pemilihan metode ini didasarkan karena ekstrak *H. edulis* yang meresap pada *paperdisc* berada di

permukaan media agar sehingga lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri yang tumbuh di permukaan media. Aktivitas senyawa antibakteri diukur berdasarkan adanya pembentukan daerah bening di sekeliling *paper disc* yang bermuatan ekstrak. Menurut Dewi (2010), *diffusion test* atau uji difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak.

Konsentrasi yang dipilih pada penelitian utama lebih kecil daripada konsentrasi penelitian pendahuluan. Hal ini dikarenakan hasil pada penelitian pendahuluan menunjukkan daya hambat dari masing – masing konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan kategori daya hambat bakteri, dimana daya hambat yang dihasilkan dalam penelitian pendahuluan pada bakteri *B. cereus* termasuk dalam kategori lemah sedangkan pada bakteri *P. aeruginosa* termasuk dalam kategori sedang. Dengan memilih konsentrasi yang lebih kecil diharapkan memiliki hasil yang mendekati dengan hasil penelitian pendahuluan, sehingga didapatkan daya hambat yang sama dengan konsentrasi minimum (lebih efektif dan ekonomis). Sesuai dengan pernyataan Nimah (2012), yang menyatakan bahwa pemilihan konsentrasi minimum dalam pengujian aktivitas antibakteri lebih efektif dan ekonomis.

Senyawa antibakteri pada teripang jenis *H. edulis* bersifat semi polar, hal ini dikarenakan senyawa tersebut larut dalam pelarut etil asetat yang memiliki sifat semi polar, terbukti dari hasil pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian utama yang menunjukkan ekstrak tersebut menghambat pertumbuhan bakteri pada media NA. Hal ini sesuai dengan pendapat Nimah (2012), senyawa antibakteri pada *Holothuria* yang bersifat semi polar lebih banyak larut dalam pelarut yang memiliki sifat semi polar.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. edulis* etil asetat terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil yang didapatkan dari pengujian aktivitas ekstrak *H. edulis* basah dan kering dengan pelarut etil asetat terhadap bakteri *Bacillus cereus* pada inkubasi 24 jam dan 48 jam disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *H. edulis* Basah dan Kering terhadap *Bacillus cereus* setelah Inkubasi 24 Jam (mm)

No.	Keadaan Sampel	Konsentrasi (µg/ml)		
		150	300	450
1.	Basah	0.8 ± 0.3 ^b	2.0 ± 0.1 ^{dd}	2.3 ± 0.1 ^{ee}
2.	Kering	0.0 ± 0.0 ^a	0.6 ± 0.1 ^b	1.6 ± 0.2 ^c

Tabel 4. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *H. edulis* Basah dan Kering terhadap *Bacillus cereus* setelah Inkubasi 48 Jam (mm)

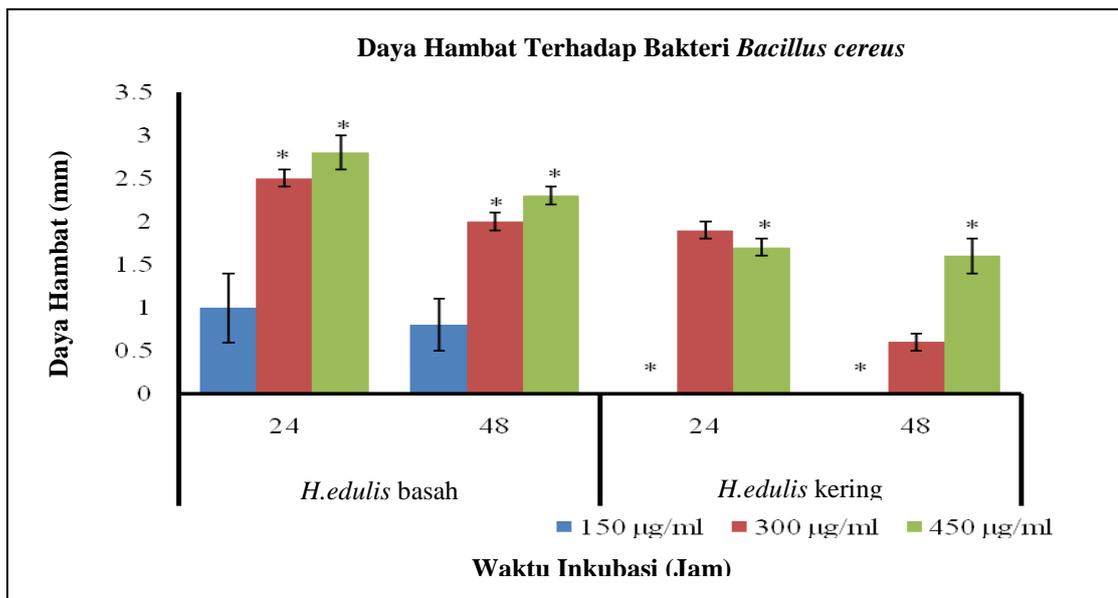
No.	Keadaan Sampel	Konsentrasi (µg/ml)		
		150	300	450
1.	Basah	0.8 ± 0.3 ^b	2.0 ± 0.1 ^{dd}	2.3 ± 0.1 ^{ee}
2.	Kering	0.0 ± 0.0 ^a	0.6 ± 0.1 ^b	1.6 ± 0.2 ^c

Keterangan:

- Data tersebut telah dikurangi diameter *paper disc* 6 mm
- Data dengan superscript berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (P<0,01)
- Data dengan superscript yang ganda menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)
- Data dengan superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata

Hasil penelitian aktivitas ekstrak *H. edulis* basah dan kering menunjukkan bahwa adanya kenaikan daya hambat dari setiap konsentrasi. Salah satu faktor yang mempengaruhi besarnya diameter daya hambat adalah konsentrasi dari ekstrak tersebut. Hubungan antara daya hambat dengan konsentrasi berbanding lurus, pada penelitian ini yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar daya hambatnya, akan tetapi pada *H. edulis* kering dalam inkubasi 24 jam konsentrasi 300 µg/ml ke konsentrasi 150 µg/ml menunjukkan adanya penurunan daya hambat. Hal ini dapat disebabkan karena ekstrak yang terlalu pekat sulit berdifusi kedalam agar. Faktor lainnya misalnya adalah tebal tipisnya media agar, kondisi murni kultur bakteri, suhu inkubasi, dan kecepatan penyerapan panas inkubator pada tiap cawan dapat berbeda tergantung ketebalan cawan petri. Pernyataan ini diperkuat oleh Ernawati (2007), yang menyebutkan bahwa faktor – faktor yang mempengaruhi daya hambat yaitu media kultur, kondisi inkubasi dan kecepatan difusi agar. Dimana kecepatan difusi agar ini dipengaruhi oleh konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, suhu dan waktu inkubasi.

Berikut ini adalah gambar diagram dari daya hambat terhadap bakteri *Bacillus cereus* pada sampel teripang *H. edulis* keadaan basah dan kering dengan konsentrasi yang berbeda pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Batang Daya Hambat Ekstrak *H. edulis* Basah dan Kering terhadap *B. cereus* setelah Inkubasi 24 dan 48 Jam (mm)

Hasil yang didapat dari pengujian aktivitas ekstrak *H. edulis* basah dan kering dengan pelarut etil asetat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada inkubasi 24 jam dan 48 jam disajikan pada Tabel 5 dan Tabel 6. Tabel 5. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *H. edulis* Basah dan Kering terhadap *Pseudomonas aeruginosa* setelah Inkubasi 24 Jam (mm)

No.	Keadaan Sampel	Konsentrasi (µg/ml)		
		150	300	450
1.	Basah	5.0 ± 0.2 ^{bb}	7.2 ± 0.3 ^d	8.6 ± 0.2 ^e
2.	Kering	3.2 ± 0.3 ^a	3.6 ± 0.4 ^a	5.5 ± 0.2 ^{cc}

Tabel 6. Diameter Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *H. edulis* Basah dan Kering terhadap *Pseudomonas aeruginosa* setelah Inkubasi 48 Jam (mm)

No.	Keadaan Sampel	Konsentrasi (µg/ml)		
		150	300	450
1.	Basah	4.8 ± 0.4 ^c	7.0 ± 0.2 ^d	8.4 ± 0.3 ^e
2.	Kering	2.8 ± 1.0 ^{aa}	3.4 ± 0.5 ^{bb}	5.0 ± 0.3 ^c

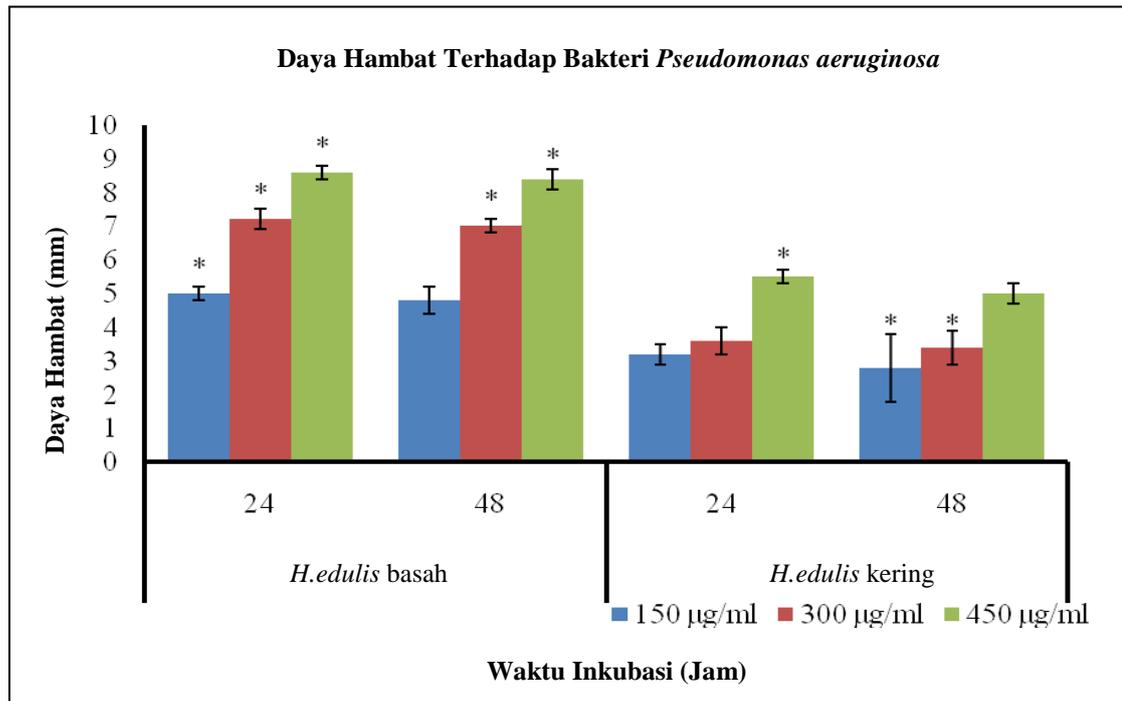
Keterangan:

- Data tersebut telah dikurangi diameter *paper disc* 6 mm
- Data dengan superscript berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata (P<0,01)
- Data dengan superscript yang ganda menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)
- Data dengan superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan keadaan sampel basah lebih unggul dibandingkan keadaan sampel kering hal ini dikarenakan pada *H. edulis* basah mempunyai alkaloid, sedangkan pada *H. edulis* kering tidak mempunyai kandungan senyawa alkaloid. Dilihat dari sifatnya alkaloid bekerja dengan menghambat dan merusak dinding sel sehingga dapat berperan sebagai activator kuat yang dapat menghancurkan bakteri sehingga ekstrak *H. edulis* basah dapat membentuk daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak *H. edulis* kering. Hal ini sesuai pendapat Gholib (2009), alkaloid merupakan senyawa yang bersifat antimikroba, yaitu dapat menghambat DNA serta RNA polymerase, menghambat respirasi sel, selain itu alkaloid merupakan activator kuat bagi sel imun yang menghancurkan bakteri, virus, dan sel kanker.

Hasil pengukuran diameter daya hambat pada masing-masing bakteri berbeda – beda, hal ini dikarenakan setiap bakteri memiliki sistem pertahanan diri dan sensitivitas yang berbeda – beda terhadap senyawa hasil ekstraksi. Menurut pendapat Austin (1988), perbedaan sensitivitas pada bakteri uji dikarenakan perbedaan kemampuan bakteri dalam menetralkan senyawa antibakteri dan adanya perubahan kondisi lingkungan akibat kehadiran senyawa lain yang dapat mengganggu aktivitas sel bakteri.

Berikut ini gambar diagram daya hambat terhadap bakteri *P. aeruginosa* pada sampel teripang *H. edulis* keadaan basah dan kering dengan konsentrasi yang berbeda pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Batang Daya Hambat Ekstrak *H. edulis* Basah dan Kering terhadap *P. aeruginosa* setelah Inkubasi 24 dan 48 Jam (mm)

Dilihat dari sifat bakteri penurunan diameter daya hambat terhadap kedua bakteri menunjukkan bahwa antibakteri yang dihasilkan dari ekstrak *H. edulis* basah dan kering bersifat bakteriostatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Dwijoseputro (2005), yang menyatakan bahwa senyawa yang bersifat bakteriostatik adalah senyawa yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan tidak membunuhnya, sehingga jika bahan antibakterinya hilang atau sudah rusak, maka bakteri uji akan dapat tumbuh.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *H. edulis* terhadap bakteri *B. Cereus* dan *P. aeruginosa* disimpulkan bahwa antibakteri yang dihasilkan ekstrak tersebut menunjukkan daya hambat terhadap bakteri gram negatif lebih besar dibandingkan bakteri gram positif. Hal ini dikarenakan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis dan tidak mampu membentuk endospora dibandingkan bakteri gram positif, sehingga aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* lebih besar dibandingkan dengan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. Cereus*. Menurut Pelczar dan Chan (2005), menyebutkan bahwa bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang tipis (10 % dari peptidoglikan), sedangkan bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal (60 – 100% dari peptidoglikan). Ditambahkan oleh Dewi (2010), yang menyatakan pembentukan endospora bagi bakteri sangat penting, karena sebagai pelindung bagi pertumbuhannya.

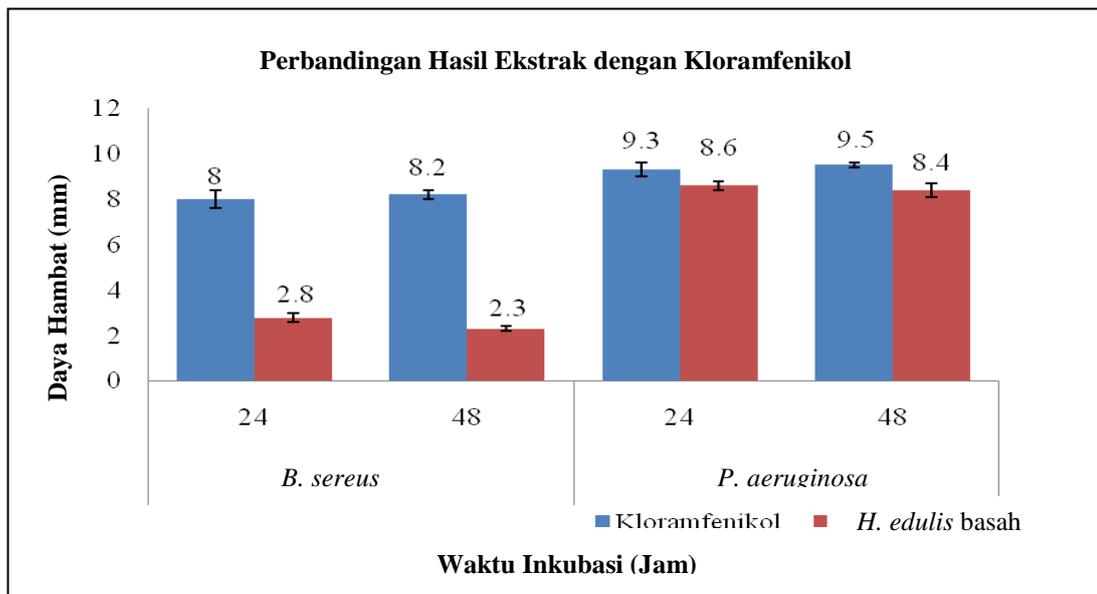
Uji Kontrol Negatif

Hasil uji kontrol negatif menunjukkan bahwa tidak terbentuknya daya hambat dari pelarut terhadap bakteri uji, sehingga pelarut yang digunakan tidak berpengaruh terhadap aktifitas antibakteri pada saat pengujian dengan menggunakan ekstrak *H. edulis* basah dan kering. Hal ini sesuai dengan tujuan dari uji kontrol negatif menurut Rifai dan Trianto (2003), yang menyebutkan uji kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut dalam pembentukan diameter daya hambat. Idealnya pelarut tidak boleh berpengaruh terhadap bakteri uji, apabila berpengaruh maka akan dikurangi dengan diameter daya hambat ekstrak sampel.

Uji Kontrol Positif

Uji kontrol positif bertujuan sebagai pembanding antara diameter daya hambat yang terbentuk dari ekstrak alami (ekstrak *H. edulis* basah) dengan antibiotik komersial. Pada uji kontrol positif ini digunakan kloramfenikol. Hasil dari uji kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol sebagai pembanding dari

ekstrak *H. edulis* basah yang merupakan ekstrak terbaik dilihat dari daya hambat yang terbentuk disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Diagram Batang Diameter Daya Hambat Kloramfenikol (150 µg/ml) dengan Ekstrak *H. edulis* Basah terhadap bakteri uji setelah Inkubasi 24 dan 48 Jam (mm)

Daya hambat kloramfenikol lebih besar dibanding ekstrak *H. edulis* basah, hal ini karena kloramfenikol merupakan senyawa murni yang mempunyai mekanisme sebagai pengganggu sintesis protein dari bakteri sehingga dapat mengakibatkan kematian bakteri, sedangkan ekstrak *H. edulis* basah merupakan ekstrak kasar dan masih mengandung berbagai senyawa lain yang dapat mempengaruhi kemampuan alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, dan saponin untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Dewi *et al.* (2014) yang menyebutkan bahwa mekanisme kloramfenikol dalam menghambat bakteri dengan bergabung pada subunit – subunit ribosom, sehingga mencegah bergabungnya asam amino menjadi protein sehingga sintesis asam amino terganggu bahkan tidak berlangsung. Hal tersebut mengakibatkan kematian sel bakteri.

Uji Kandungan Metabolit Sekunder

Hasil pengujian fitokimia ekstrak *H. edulis* basah dan kering tersaji pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak *H. edulis* Basah dan Kering

No.	Uji	Hasil Ekstrak						Keterangan
		Metanol		Etil Asetat		n-heksan		
		W	D	W	D	W	D	
1.	Alkaloid	-	-	+	-	-	-	Terdapat endapan putih
2.	Triterpenoid	+	+	+	+	-	-	Berwarna merah
3.	Steroid	+	+	+	+	-	-	Berwarna biru atau ungu
4.	Flavonoid	+	+	+	+	+	+	Terbentuk perubahan warna merah ataupun orange
5.	Fenolik	-	-	-	-	-	-	Tidak ada perubahan warna hijau ataupun biru
6.	Saponin	+	+	+	+	-	-	Terbentuk busa

Keterangan:

- (+) : Terdapat dalam ekstrak
- (-) : Tidak terdapat dalam ekstrak
- W : Wet (Basah)
- D : Dry (Kering)

Senyawa triterpenoid dari hasil ekstraksi merupakan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri karena mampu mengunci kinerja enzim yang dapat mengikat DNA. Sesuai dengan pendapat Nurjanah *et al.* (2011), triterpenoid mempunyai kemampuan menghambat kinerja enzim dengan cara berikatan dengan sisi aktif enzim yang akan mengikat DNA dan membelahnya, sehingga enzim menjadi terkunci dan tidak dapat mengikat DNA.

Steroid merupakan salah satu metabolit sekunder dari *H. edulis* yang memiliki potensi sebagai antibakteri karena dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat

Bangham dan Horne (2006), steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat impermeable terhadap senyawa – senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membrane menurun, morfologi membran sel berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membrane sel rapuh dan lisis.

Hasil ekstrak *H. Edulis* basah dan kering juga mengandung senyawa flavonoid yang diduga menjadi salah satu agen sebagai antibakteri yang dapat mengurangi kekebalan pada organisme yang dituju. Menurut Naidu dalam Malthaputri (2007), flavonoid merupakan golongan yang penting karena memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organisme sasaran.

Metabolit sekunder berikutnya yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu saponin, hal ini dikarenakan senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma dan merusak sel dari bakteri. Sesuai pendapat Absor dalam Nimah (2012), yang menyebutkan bahwa senyawa saponin merupakan senyawa antibakteri karena kemampuannya dalam menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak atau hancur.

Hasil dari uji fitokimia menyebutkan bahwa senyawa alkaloid hanya terdapat pada ekstrak etil asetat *H. edulis* basah, hal ini dikarenakan pelarut etil asetat termasuk dalam pelarut polar. Sesuai dengan pernyataan Pranata (1997), pada umumnya alkaloid bersifat basa dapat terikat oleh pelarut organik, sedangkan alkaloid yang bersifat netral atau asam mudah terikat oleh air dan pelarut polar.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan maka dapat diambil kesimpulan bahwa *Holothuria edulis* dalam keadaan basah mempunyai daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan *H. edulis* dalam keadaan kering terhadap bakteri uji; dan perbedaan konsentrasi dan keadaan sampel *H. edulis* basah dan kering berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri ($p < 0.05$).

Ucapan Terimakasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Dr. Ir. Widodo Farid Ma'ruf, M.Sc dan Ir. Sumardianto, PG, Dipl. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dalam menyelesaikan jurnal ilmiah ini, serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penulisan jurnal ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Austin, B. 1988. *Marine Microbiology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Bangham A.D. dan Horne R.W. 2006. *Action of Saponins on Biological Cell Membranes*. *Nature* 196: 952-953.
- Dewi, F.K., 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Dewi, MK., Ratnasari, E., dan Guntur Trimulyono. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu.
- Dwijoseputro. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. Gramedia, Jakarta.
- Ernawati. 2007. Penapsiran dan Fraksinasi Senyawa Antibakteri dari Rumput Laut Bulu Ayam. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor, 88hlm.
- Gholib, D. 2009. Uji Daya Hambat Daun Senggani terhadap *Trychophyton mentagrophytes* dan *Candida albicans*. *Berita Biologi* 9(5).
- Hardiningtyas, S.D. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton* sp. yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor, 67 hlm.
- Hartati, R., Widianingsih. dan Delianis P. 2009. Pembenuhan dan Pembesaran Teripang Pasir. BP UNDIP. Semarang.
- Malthaputri, E. R. 2007. Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (*Cryptocaria massoia*) terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Pangan. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nimah, S. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Semarang.
- Nofiani, R., Siti, N., dan Ajuk, S. 2009. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat. [E-Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis]. Universitas Tanjung Pura. Pontianak. Vol. 1, No. 2, Hal. 33 – 41.
- Novita, H. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Awal Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Kasar Teripang Gajah (*Stichopus chloronotus*). [Tesis]. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurjanah, Laili I., dan Asadatun A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen* spp). [Jurnal Ilmu Kelautan]. IPB, Bogor.



- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. UI-Press, Jakarta.
- Pranata, F.S. 1997. Isolasi Alkaloid dari Bahan Alam. [Jurnal Biota]. Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.
- Rifai, A dan A. Trianto 2003. Penggunaan *Thin Layer Chromatography* untuk Mengidentifikasi Kandungan Bahan Bioaktif Antibakteri *Vibrio harvey* pada Karang Lunak *Sarcophyton* sp. (Laporan Penelitian). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang.