

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI TERIPANG LAUT YANG DI PEROLEH DI PERAIRAN BUNAKEN

(ANTI-BACTERIAL ACTIVITIES OF SEA SEA LUGGAGES OBTAINED IN BUNAKEN WATERS)

Nia Nancy Kano¹, Fitje Losung², Remy E.P. Mangindaan², Rosita A.J. Lintang², Stenly Wullur², Reiny A. Tumbol³

1. Mahasiswa Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK, UNSRAT Manado
2. Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK, UNSRAT Manado
3. Staf Pengajar Program Studi Budidaya Perairan, FPIK, UNSRAT Manado

Penulis korespondensi: Nia Nancy Kano ; nianancykano@gmail.com

ABSTRACT

Sea cucumber or sea cucumber is one of the marine fauna that lives in shallow sea areas that are included in members of thorn-skinned animals (Echinoderms). Sea cucumbers produce secondary metabolites which are usually used as self-defense. Sea cucumbers are capable of producing bioactive compounds that are beneficial to humans, namely antibacterial. The purpose of this study was to test the antibacterial activity of the crude extracts of the three sea cucumbers, *Holothuria (Halodeima) atra*, *Bohadschia marmorata*, *Pearsonothuria graeffei* crude extracts. and partition fraction of sea cucumber *Pearsonothuria graeffei* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Extraction begins with maceration of the sample using 95% methanol for three times and then the filtrate obtained is evaporated using a rotary vacuum evaporator. The extract obtained was fractionated by the Liquid Partition method using n-hexane, ethyl acetate, and methanol as solvents. The antibacterial activity testing method used was agar diffusion (Kirby and Bauer disc diffusion) with a concentration of 100 mg/ml of the test material and the amount of test material in a 30 l disc. The positive control used was Amoxsan for *S. aureus* bacteria and Ceftriaxone for *E. coli* bacteria while the negative control used methanol. For each bacterial medium the test was carried out with three replications and then the results were averaged. From this study, it was found that the three extracts of the sea cucumber samples and the three fractions of the sea cucumber *P. graeffei* were able to inhibit the growth of *E. coli* and *S. aureus* bacteria with moderate strength. The crude extract of *B. marmorata* showed the best activity against *E. coli* bacteria with an inhibition zone of 10 mm. Furthermore, crude extract of *H. (H.) atra* showed the best activity against *S. aureus* bacteria with an inhibition zone of 9 mm.

Keywords : Sea Cucumber, Bunaken Island Waters, Partition, Antibacterial, Extract.

ABSTRAK

Teripang atau timun laut merupakan salah satu fauna laut yang hidup di daerah laut dangkal yang masuk dalam anggota hewan berkulit duri (*Echinodermata*). Teripang menghasilkan metabolit sekunder yang biasanya dipakai sebagai pertahanan diri teripang mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi manusia, yaitu antibakteri. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar teripang ketiga ekstrak kasar teripang *Holothuria (Halodeima) atra*, *Bohadschia marmorata*, *Pearsonothuria graeffei* dan fraksi partisi dari teripang *Pearsonothuria graeffei* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstraksi diawali dengan Maserasi sampel menggunakan metanol 95% selama tiga kali dan kemudian filtrat yang didapatkan dievaporasi dengan *Rotary vacuum evaporator*. Ekstrak yang didapatkan difraksinasi dengan metode Partisi Cair menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol. Metode pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan adalah difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*) dengan konsentrasi bahan uji 100 mg/ml dan banyaknya bahan uji dalam cakram 30 µl. Kontrol positif yang digunakan yaitu Amoxsan untuk bakteri *S. aureus* dan Ceftriaxone untuk bakteri *E. coli* sedangkan kontrol negatif menggunakan metanol. Untuk setiap media bakteri pengujian dilakukan dengan tiga ulangan dan

kemudian hasilnya dirata-ratakan. Dari penelitian ini didapatkan ketiga ekstrak sampel teripang dan ketiga fraksi teripang *P. graeffei* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan kekuatan tergolong sedang. Ekstrak kasar *B. marmorata* menunjukkan aktivitas terbaik terhadap bakteri *E. coli* dengan zona hambat 10 mm. Selanjutnya ekstrak kasar *H. (H.) atra* menunjukkan aktivitas terbaik terhadap bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 9 mm.

Kata Kunci : Teripang, Perairan Pulau Bunaken, Partisi, Antibakteri, Ekstrak.

PENDAHULUAN

Indonesia yang terletak antara samudra pasifik dan samudera hindia merupakan negara maritim dengan keanekaragaman hayati yang tinggi (von Rintelen *dkk.*, 2017). Faktor-faktor lingkungan di laut yang beragam membuat sumber daya alam laut menarik diteliti untuk mendapatkan produk alam laut. Berbagai organisme laut penghasil produk alam antara lain alga, bryozoa, spons, teripang dan echinodermata (Tarman *dkk.*, 2012). Menurut Xu *dkk.* (2018) salah satu organisme dari Filum Echinodermata yaitu Teripang (Holothuridae) dalam beberapa dekade terakhir telah menjadi salah satu pusat perhatian peneliti kimia produk alam laut.

Teripang atau timun laut merupakan salah satu fauna laut yang hidup di daerah lautan dangkal. Teripang masuk dalam anggota hewan berkulit duri (Echinodermata). Namun, tidak semua jenis teripang mempunyai duri pada kulitnya karena ada beberapa jenis teripang yang tidak berduri. Di antara empat famili teripang, hanya famili Holothuriidae yang dapat dimakan dan memiliki nilai ekonomis (Darsono, 2007)

Diduga bahwa sistem metabolisme sekunder yang biasanya dipakai sebagai pertahanan diri teripang mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi manusia (Romimohtarto

dan Juwana, 2007). Senyawa bioaktif ini (metabolit sekunder) merupakan metabolit turunan secara biosintetik dari metabolit primer. Karena aktivitas farmakologinya maka senyawa tersebut memiliki prospek untuk diisolasi dan dimanfaatkan dalam bidang farmasi (Satari, 2003). Diketahui, dari teripang sudah ditemukan berbagai senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas seperti antikosidan, antikanker, antiinflamasi, antijamur dan antibakteri (Manoppo *dkk.*, 2017; Putram *dkk.*, 2017; Zuniarto *dkk.*, 2017; Sukmiwati *dkk.*, 2018; Avigail *dkk.*, 2019). Perlu dilakukan pencarian senyawa antibakteri dari teripang untuk mendapatkan obat antibakteri baru, dan memaksimalkan senyawa tersebut dalam bidang farmasi.

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan dapat mematikan bakteri dengan cara merusak metabolismenya (Tenover, 2006; Rajasekar *dkk.*, 2012). Berdasarkan uraian di atas maka peneliti merasa perlu untuk melakukan penelitian mengenai biota laut khususnya teripang dalam upaya penemuan senyawa bioaktif antibakteri untuk dijadikan bahan baku obat-obatan yang dapat menghambat bahkan membunuh bakteri.

METODE PENELITIAN

Sampel teripang diambil dari perairan Pangalisang Bunaken (Gambar 5) dengan titik koordinat berturut-turut seperti

berikut T1: 1°35'54.2" LU 124°46'27.7" LT
T2: 1°35'50.3" LU 124°46'32.0" LT T3:
1°36'04.4" LU 124°46'54.5" LT.
Pengambilan sampel dilakukan dengan snorkeling pada kedalaman air sekitar 1,5-6 meter. Sampel teripang yang didapat, dibersihkan menggunakan aquades dan dimasukkan ke dalam plastik sampel kemudian dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat.

Identifikasi Teripang

Sampel teripang yang diperoleh diidentifikasi terlebih dahulu untuk diketahui spesiesnya. Identifikasi dilakukan dengan cara mengamati morfologi sampel, bentuk, warna, dan tekstur sampel. Pengamatan morfologi teripang berdasarkan pedoman Gosliner *et al.* (1996).

Partisi

Ekstrak kasar teripang *P. graeffei* yang dihasilkan dari maserasi dengan metanol dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan (1:1). Corong pisah dikocok berulang-ulang hingga tercampur rata kemudian diamkan hingga terbentuk lapisan n-heksan dan lapisan metanol. Lapisan n-heksan dan lapisan metanol kemudian dipisahkan dan ditampung dalam wadah yang berbeda. Selanjutnya lapisan n-heksan dievaporasi hingga kering sehingga diperoleh fraksi n-heksan. Lapisan metanol dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan dipartisi dengan pelarut etil asetat yang prosedurnya sama seperti sebelumnya. Selanjutnya lapisan etil asetat dan lapisan metanol dipisahkan dan ditampung dalam wadah yang berbeda kemudian dievaporasi hingga kering sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi metanol.

Sterilisasi Alat dan Media

Alat-alat yang digunakan pada pengujian antibakteri, seperti tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri dan peralatan gelas lainnya dicuci terlebih dahulu kemudian dikeringkan dengan posisi terbalik. Setelah kering alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas hvs kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 150° C selama kurang lebih 120 menit. Sedangkan untuk media padat (*nutrient agar*) dan media cair (*nutrient broth*) yang digunakan, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 120° C selama kurang lebih 20 menit.

Pembuatan Media Cair (NB)

Media cair yang digunakan dibuat dengan cara melarutkan *nutrient broth* sebanyak 1,3 gram dengan 100 ml air dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan hingga terbentuk larutan jernih berwarna kuning. Setelah itu, media didinginkan dan dibagikan ke dalam 10 tabung sehingga masing-masing tabung berisi media NB sebanyak 10 ml. Semua tabung yang sudah berisi media, disumbat dengan kapas kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 20 menit pada suhu 120° C. Setelah disterilkan, media didinginkan sehingga siap untuk digunakan sebagai media kultur bakteri.

Kultur Bakteri

Bakteri yang digunakan untuk pengujian antibakteri ini adalah *E. coli* dan *S. aureus*. Sebanyak 200 µL suspensi dari masing-masing bakteri diambil menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media cair. Kedua bakteri tersebut disuspensikan ke dalam media cair pada dua tabung yang berbeda kemudian tabung disumbat kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam.

Pembuatan Media Padat (NA)

Komposisi bahan yang digunakan pada pembuatan media padat adalah Nutruent agar sebanyak 3,2 g, air sebanyak 240 ml, dan ditambahkan agar sebanyak 2 spatula. Media dibuat menggunakan dua erlenmeyer untuk kedua bakteri uji, sehingga masing-masing erlenmeyer berisi media NA sebanyak 120 ml. Masing-masing erlenmeyer yang sudah berisi media, ditutup dengan aluminium foil kemudian dipanaskan hingga bahan-bahan larut dengan sempurna. Media kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 20 menit pada suhu 120° C. Setelah disterilkan, media didiamkan hingga hangat kemudian dimasukkan bakteri uji sebanyak 1 ml yang diambil dari media cair yang telah dikultur dengan bakteri uji sebelumnya. Media Didiamkan hingga padat dan siap digunakan untuk pengujian antibakteri.

Uji Antibakteri

Kertas cakram (*paper disc*) yang digunakan pada pengujian antibakteri ini berukuran 6 mm dengan daya serap 50 µL tiap kertas cakram. Media padat yang agak panas ditambahkan bakteri uji, lalu dikocok merata dan dituang ke dalam cawan petri steril. Setelah semua media di cawan petri dingin diletakkan kertas cakram secara teratur. Selanjutnya dengan pipet mikron akan ditetesi masing-masing ekstrak uji 30 µL dari konsentrasi 100 mg/ml. Selanjutnya petri diletakkan pada tempat yang aman pada suhu ruangan. Setelah 24 jam diukur zona bening sekeliling kertas cakram.

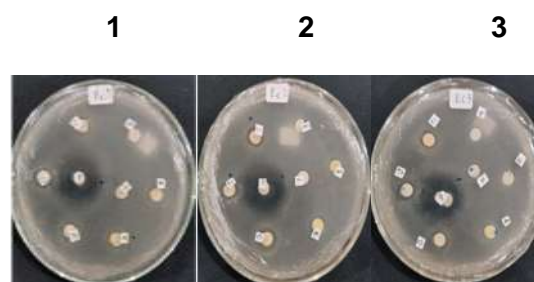
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Teripang dan Ketiga

Fraksi Teripang *Pearsonothuria graeffei*

Pada pengujian antibakteri ini menggunakan konsentrasi sampel uji 100 mg/ml dengan banyaknya ekstrak yang ditotolkan pada kertas cakram ialah 30 µl di setiap fraksi dengan kontrol positif (amoxsan untuk bakteri *S. aureus* dan ceftriaxone untuk bakteri *E. coli*) dan kontrol negatif pelarut yang digunakan pada saat maserasi (metanol) dengan masing- masing tiga kali pengulangan. Media padat yang sudah siap diautoklaf kemudian masukan kedua bakteri uji dan tuangkan pada cawan petri sampai memadat. Setelah media mengeras kertas cakram yang sudah berisi ekstrak uji dengan masing-masing konsentrasi ditotolkan pada media padat sampai benar-benar menempel.

Gambar 1. Hasil penelitian pada media bakteri *E. coli*

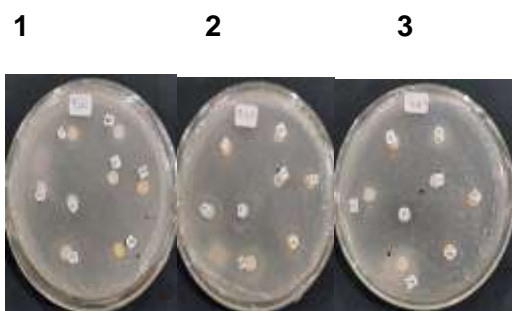


Konsentrasi Tiap Fraksi & Kontrol Pada Kertas Cakram 100 mg/ml

Keterangan :

- T1 = Ekstrak H. (H.) atra
- T2= Ekstrak *B. marmorata*
- T3= Ekstrak *P. graeffei*
- E= Fraksi etil asetat *P. graeffei*
- M = Fraksi metanol *P. graeffei*
- = Kontrol Negatif
- + = Kontrol Positif

Gambar 2. Hasil penelitian pada media bakteri *S. aureus*



Konsentrasi Tiap Fraksi & Kontrol Pada Kertas Cakram 100 mg/ml

Keterangan :

- T1 = Ekstrak *H. (H.) atra*
- T2= Ekstrak *B. marmorata*
- T3= Ekstrak *P. graeffei*
- Fraksi metanol *P. graeffei* M =
- E= Fraksi etil asetat *P. graeffei* N =
- Fraksi n-heksana *P. graeffei* - =
- Kontrol Negatif
- + = Kontrol Positif

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada media bakteri *E. coli*

SAMPSEL	Konsentrasi Tiap Ekstrak, Fraksi dan Kontrol 100 mg/ml			
	Ulangan I (mm)	Ulangan II (mm)	Ulangan III (mm)	Rata-rata (mm)
Ekstrak <i>H (H.) atra</i>	9,0	10,0	11,0	10,0
Ekstrak <i>B. marmorata</i>	10,0	11,0	12,0	11,0
Ekstrak <i>P. graeffei</i>	10,0	8,0	12,0	10,0
Fr. etil asetat <i>P. graeffei</i>	8,0	8,0	7,0	7,7
Fr. metanol <i>P. graeffei</i>	7,0	8,0	7,0	7,3
Fr. n-heksana <i>P. graeffei</i>	8,0	8,0	8,0	8,0
Kontrol positif	20,0	25,0	21,0	22,0
Kontrol negative	0,0	0,0	0,0	0,0
Banyak Ekstrak Dalam Kertas Cakram = 30 µl Diameter kertas cakram = 6 mm Daya serap kertas cakram = 50 µl				

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada media bakteri *S. aureus*

SAMPSEL	Konsentrasi Tiap Ekstrak, Fraksi dan Kontrol 100 mg/ml			
	Ulangan I (mm)	Ulangan II (mm)	Ulangan III (mm)	Rata-rata (mm)
Ekstrak <i>H (H.) atra</i>	8,0	10,0	9,0	9,0
Ekstrak <i>B. marmorata</i>	7,0	9,0	8,0	8,0
Ekstrak <i>P. graeffei</i>	7,0	10,0	9,0	8,6
Fr. etil asetat <i>P. graeffei</i>	8,0	7,0	8,0	7,7
Fr. metanol <i>P. graeffei</i>	9,0	7,0	7,0	7,7
Fr. n-heksana <i>P. graeffei</i>	8,0	10,0	8,0	8,6
Kontrol positif	7,0	9,0	9,0	8,3
Kontrol negative	0,0	0,0	0,0	0,0
Banyak Ekstrak Dalam Kertas Cakram = 30 µl Diameter kertas cakram = 6 mm				

Daya serap kertas cakram = 50 μ l

Melalui data yang ditampilkan pada tabel 1 dan tabel 2, menunjukkan setelah dilakukan pengujian bioaktivitas antibakteri ketiga ekstrak kasar teripang dan fraksi partisi dari teripang *Pearsonothuria graeffei* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, maka didapatkan aktivitas antibakteri yang beragam ditandai dengan adanya zona hambat pada kedua media bakteri uji pada konsentrasi 100 mg/ml. Semua sampel yang diujikan menunjukkan aktivitas antibakteri pada kedua media bakteri uji dalam 3 kali ulangan, kecuali kontrol negatif. Selanjutnya data rata-rata zona hambat dari antibakteri ketiga ekstrak kasar teripang dan fraksi partisi dari teripang *Pearsonothuria graeffei* pada tabel 1 dan 2.

Pada rerata zona hambat hambat ketiga ekstrak kasar teripang dan fraksi *P. graeffei* serta kedua kontrol terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Kontrol positif yang dalam hal ini merupakan obat antibiotik amoxsan untuk media bakteri *S. aureus* dan ceftriaxone untuk media bakteri *E. coli* menunjukkan keefektifannya menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata diameter zona hambat pada media *S. aureus* 8,3 mm (tergolong sedang) dan pada media *E. coli* 22 mm (tergolong sangat kuat) sedangkan kontrol negatif yang dalam hal ini adalah metanol 95% tidak menunjukkan aktivitas antibakteri, seperti yang diharapkan.

Melihat keseluruhan hasil penelitian ini, maka dapat dijelaskan bahwa seluruh sampel uji menyatakan bahwa senyawa-senyawa antibakteri dari ketiga ekstrak kasar teripang dan fraksi *P. graeffei* merupakan senyawa berspektrum luas. Spektrum luas artinya senyawa tersebut bekerja aktif terhadap kedua golongan

bakteri, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Sedangkan spektrum sempit artinya suatu senyawa bekerja aktif hanya terhadap satu golongan bakteri saja baik hanya pada bakteri Gram positif ataupun hanya pada bakteri Gram negatif (WHO, 2014).

KESIMPULAN

1. Ekstrak sampel teripang didapatkan seberat 21,28 g dari berat basah sampel 890 g untuk *H. (H.) atra*, seberat 17,15 g dari berat basah sampel 727 g untuk *B. marmorata*, dan seberat 26,65 g dari berat basah sampel 1.080 g untuk *P. graeffei*.
2. Hasil fraksinasi yang dilakukan untuk ekstrak teripang *P. graeffei* yaitu fraksi etil asetat seberat 3,69 g, fraksi metanol seberat 1,50 g, dan fraksi n-heksana seberat 1,59 g. Hasil ini menunjukkan senyawa dari teripang ini banyak larut dalam pelarut semipolar (etil asetat)
3. Ketiga ekstrak sampel teripang ketiga fraksi teripang *P. graeffei* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstrak kasar *B. marmorata* menunjukkan aktivitas terbaik terhadap bakteri *E. coli* dengan zona hambat 10 mm. Selanjutnya ekstrak kasar *H. (H.) atra* menunjukkan aktivitas terbaik terhadap bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 9 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Avigail, Y., E. Yudiati. D. Pringgenies. 2019. Aktivitas antioksidan dan Kandungan total fenolik pada ekstrak

- Teripang di Perairan Karimunjawa Jepara. *Journal Of Marina Research*, 8(4): hal. 346-354.
- Darsono, P. 2007. Teripang (Holothuroidea): kekayaan alam dalam keragaman biota laut. *Oseana*, 32(2): hal. 1-10.
- Gosliner, T. M., D. W. Behrens, G. C. Williams. 1996. Coral Reefs Animal of the Indo-Pacific: animal life from Africa to Hawai'i exclusive of the vertebrates. *Sea Challengers: Monterey*. 314 hal.
- Manoppo, E.S., D.S. Wewengkang, N. Kojong. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak Teripang *Holothuria edulis* yang diperoleh dari Teluk Manado. *Pharmocoon*, 6(4): hal. 44-54.
- Rajasekar, T., S. Balaji, S. Kumaran, B. Deivasigamani, S.R. Pugzhavendhan. 2012. Isolation and Characterization of Marine Fungal Metabolites against Clinical Pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. hal. S387-S392
- Romimohtarto, K dan S. Juwana. 2007. *Biologi Laut: Ilmu Pengetahuan tentang Biota Laut*. Djambatan, Jakarta. 540 hal.
- Satari, R. 2003. Produk Alam Laut sebagai Lead Compound untuk Farmasi dan Pertanian. Makalah disajikan ada Seminar Prespektif Baru dalam Drug Discovery, Ujung Pandang.
- Tarman, K., H.N. Prestisia, I. Setyaningsih, Meydia, Yogiara, J.K. Hwang. 2012. Kandungan Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bintang Laut (*Culcita schmideliana*). *JPHPI*, 15(13): hal. 207-215.
- Tenover, 2006, Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria, *The American Journal of Medicine*, 119(6): hal. 3-10.
- Von Rintelen, K., E. Arida, C. Häuser. 2017. A review of biodiversity-related issues and challenges in megadiverse Indonesia and other Southeast Asian countries. *Research Ideas and Outcomes*, 3, e20860.
- WHO. 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. World Health Organization. 257 hal.
- Xu, C., R. Zhang, Z. Wen. 2018. Bioactive compounds and biological functions of sea cucumbers as potential functional foods. *Journal of Functional Foods*. 49: hal. 73-84.
- Zuniarto, A.A., A. Pradiningsih. A. Hamidah. 2017. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Sebagai Antiinflamasi Dengan Metode Udem Pada Kaki Tikus Yang Diinduksi Karagenan. *Pharmaxplore*, 2(3): hal. 94-103.