

Uji Aktivitas Antibakteri Pada Ekstrak Etanolik Teripang Kering Dari Ujung Pangkah Gresik

M. Ainul Mahbubillah (1, Ca*), Putri Ayu Ika Setiyowati (2),
Muhammad Badrut Tamam (3), Fika Nur Fitriana Putri Bukhori (4)

Program Studi S1 Biologi Fakultas Sains, Teknologi dan Pendidikan
Universitas Muhammadiyah Lamongan

ainul.mahbubillah@hotmail.com (1, Ca*), putriayuikasetiyowati@gmail.com (2),
mh.badruttamam@gmail.com (3), fikanurfitriana02@gmail.com (4)

ABSTRAK

Teripang merupakan sub sektor perikanan yang potensial namun pemanfaatannya masih kurang populer karena bentuk fisik yang kurang disukai. Namun dari bentuk yang tidak disukai tersebut, teripang mengandung banyak manfaat sebagai nutrisi dan pengobatan, termasuk adanya aktivitas antimikroba. Pemanfaatan teripang sebagai nutrisi ini dimanfaatkan oleh masyarakat desa Ujung Pangkah Gresik sebagai kerupuk. Penelitian ini bertujuan membuktikan potensi antimikroba pada teripang kering bahan kerupuk dari desa Ujung Pangkah Gresik. Teripang telah direbus terlebih dahulu sebelum dilakukan pengeringan di bawah sinar matahari. Teripang kering diblender kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan etanol 96%. Ekstrak kemudian disterilisasi dengan filtrasi menggunakan filter PTFE 0,2 µm. Ekstrak diuji menggunakan metode Kirby-Bauer pada medium Mueller-Hinton Agar yang diinokulasi dengan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Burkholderia cepacia*, dan khamir *Candida albicans*. Kontrol antibiotik tetrasiklin 30 µg/ml dan antifungal flukonazol 2,5 µg/ml digunakan sebagai pembanding. Hasil dari penelitian ini didapatkan bahwa seluruh ekstrak etanolik teripang kering dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% tidak menunjukkan zona bening. Sedangkan zona bening ditunjukkan pada kontrol tetrasiklin dan flukonazol. Hal ini disebabkan oleh hilangnya aktivitas antimikroba pada ekstrak etanolik teripang kering yang berasal dari peptida antimikroba yang rusak karena adanya pemanasan saat perebusan.

Kata Kunci : Antimikroba, Ekstrak Etanolik, Teripang

ABSTRACT

Sea cucumber is a potential fishery sub-sector, but its use still not popular because of its unfavorable physical form. However, from its unfavorable form, sea cucumbers contain many benefits as nutrition and medicine, including the presence of antimicrobial activity. The use of sea cucumbers as a nutrient is used by the people of Ujung Pangkah Gresik village as crackers. This study aims to prove the antimicrobial potential of dried sea cucumbers with crackers from Ujung Pangkah village, Gresik. The sea cucumbers have been boiled first before drying in the sun. The dried sea cucumbers were blended and then extracted using 96% ethanol. The extract was then sterilized by filtration using a 0.2 m PTFE filter. Extracts were tested using the Kirby-Bauer method on Mueller-Hinton Agar medium inoculated with *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Burkholderia cepacia*, and yeast *Candida albicans*. The control antibiotic tetracycline 30 µg/ml and antifungal 2,5 µg/ml fluconazole were used as comparisons. The results of this study showed that all ethanolic extracts of dry sea cucumber with concentrations of 5%, 10%, and 15% did not show any clear zone. While the clear zone was shown in the control of tetracycline and fluconazole. This was caused by the loss of antimicrobial activity in the ethanolic extract of dried sea cucumbers derived from antimicrobial peptides which were damaged by heating during boiling process.

Keywords : Antimicrobial, Ethanolic Extract, Sea Cucumber.

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Sektor perikanan merupakan salah satu komoditas ekspor yang potensial, salah satu sub sektornya adalah teripang (Utami and Indrayani, 2018). Pemanfaatan teripang di Indonesia sebagai bahan pangan tergolong rendah dan kurang populer dibanding produk perikanan lainnya, disebabkan teripang memiliki bentuk fisik yang kurang disukai. Namun dalam bentuk yang tidak disukai itu, teripang mengandung nutrisi yang sangat tinggi, seperti protein, kalsium dan kolagen (Syamsulina et al., 2012). Selain berpotensi sebagai nutrisi, teripang juga sejak lama dikenal memiliki potensi pengobatan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa teripang dapat memberikan aktivitas antikoagulan (Chen et al., 2012), antioksidan (Liu et al., 2012), antihipertensi (Vishkaei et al., 2016), antitumor (Zhang and Zhu, 2017), antikanker (Wargasetia et al., 2018), dan antimikroba (Shakouri et al., 2017; Wang et al., 2012). Aktivitas antimikrobia terhadap bakteri dan fungi telah banyak dibuktikan pada beberapa penelitian. Ekstrak teripang dapat menimbulkan zona bening pada pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* (Sukmiwati et al., 2020), *Streptococcus* spp. (Kiani et al., 2014), *Escherichia coli*, dan *Candida albicans* (Shakouri et al., 2017). Aktivitas antimikroba ini disebabkan karena kandungan terpenoid, saponin, dan fenol (Sukmiwati et al., 2020) dan peptida antimikroba (Fern et al., 2013; Xue et al., 2015) pada teripang. Komoditas teripang di desa Ujung Pangkah Kabupaten Gresik merupakan komoditas utama selain ikan, kerang, dan udang. Masyarakat memanfaatkan komoditas ini sebagai kerupuk. Dalam persiapan penyajian, masyarakat melakukan perebusan dan pengeringan dengan sinar matahari sebelum dilakukan penggorengan pada produk teripang tersebut (Muniroh and Amin, 2020). Perlu dilakukan penelitian mengenai potensi antimikroba pada produk teripang kering bahan kerupuk dari Ujung Pangkah Gresik ini untuk mengetahui manfaat dari produk teripang kering tersebut.

2. Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana aktivitas antibakteri pada ekstrak etanolik teripang kering dari Ujung Pangkah Gresik

3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak etanolik teripang kering dari Ujung Pangkah Gresik terhadap khamir.

4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran terhadap manfaat dari teripang kering jika digunakan sebagai sumber pangan dalam kaitan aktivitas antimikroba.

II. METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2021 – Januari 2022 di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi S1 Biologi, Fakultas Sains, Teknologi dan Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Lamongan.

Bahan dan Peralatan

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah blender, waterbath, botol bersumbat berwarna coklat, kertas saring, cawan porselen, oven, Autoklaf, kabinet *Laminar Air Flow* (LAF), pinset, perforator kertas, labu Erlenmeyer, cawan Petri, tabung reaksi, gelas ukur, mikropipet, pipet tip, timbangan analitik, kapas usap steril, siring filter FTFE 0,2 μm ,

inkubator, dan jangka sorong. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah teripang kering, Etanol 96%, akuades, tetrasiklin, flukonazol, isolat bakteri *Bacillus subtilis* (Bs), *Staphylococcus aureus* (Sa), *Escherichia coli* (Ec), *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), *Salmonella typhimurium* (St), *Burkholderia cepacia* (Bc), dan khamir *Candida albicans* (Ca), media *nutrient agar* (NA), *potato dextrose agar* (PDA), dan Mueller-Hinton Agar (MHA).

Tahapan Penelitian

Sumber Teripang

Teripang didapatkan dari nelayan di Kecamatan Ujung Pangkah Kabupaten Gresik. Teripang ditangkap melalui perairan ujung pangkah kemudian dibersihkan dan direbus. Selanjutnya teripang dikeringkan di bawah sinar matahari hingga kering.

Ekstraksi Teripang

Sebanyak 500 g teripang kering dihaluskan menggunakan blender kemudian dimaserasi selama 24 jam dalam 1000 ml etanol 96 % dengan menggunakan botol bersumbat berwarna coklat sambil sekali-kali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 72 jam dan disaring. Sejumlah 200 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan porselen yang telah dipanaskan dan ditara.

Preparasi Ekstrak Etanolik Teripang dan Antibiotik

Ekstrak teripang ditimbang masing-masing 0,25 g, 0,5 g, dan 0,75 g. Kemudian masing-masing dilarutkan dalam 5 ml akuades steril hingga diperoleh konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Selain itu disiapkan 10 ml tetrasiklin 30 µg/ml dan flukonazol 2,5 µg/ml. Ekstrak teripang dan antibiotik dilakukan sterilisasi dengan siring filter steril membran PTFE 0,2 µm.

Subkultur Isolat Bakteri Patogen

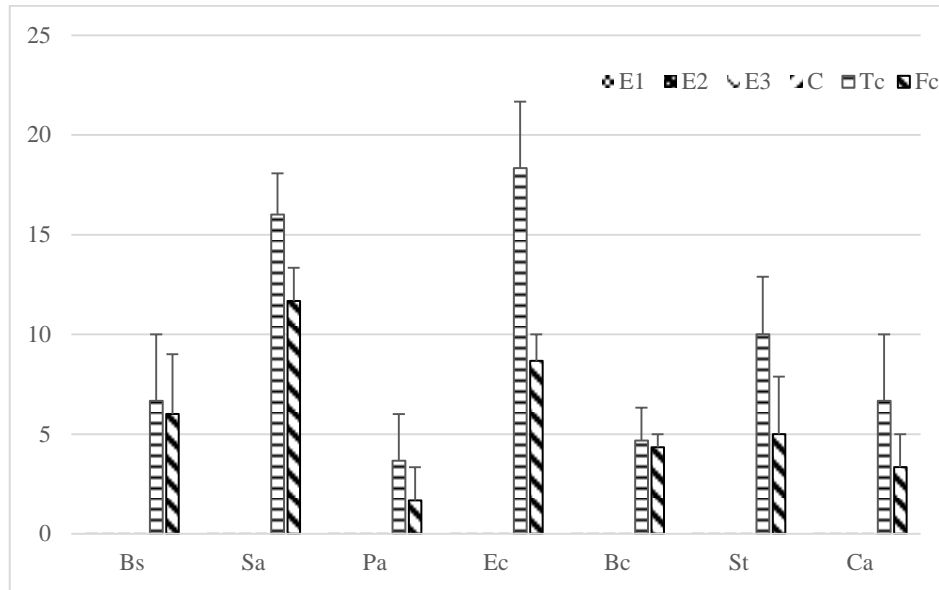
Dengan menggunakan teknik aseptik, isolat bakteri Bs, Sa, Ec, Pa, St, Bc, dan khamir Ca diambil 1 koloni penuh dengan menggunakan jarum ose yang steril dan digoreskan secara penuh pada permukaan media NA steril miring (bakteri) dan PDA steril miring (khamir). Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C.

Uji Antimikroba

Isolat bakteri dan khamir diambil dengan menggunakan kapas usap steril. Diusap secara merata pada masing-masing cawan Petri berisi media MHA. Kertas saring berbentuk cakram diambil menggunakan pinset steril dan dicelupkan pada masing-masing larutan ekstrak teripang dan kontrol. Kertas saring ditempelkan pada bagian media MHA yang telah ditandai. Kultur diinkubasi selama 18 jam dalam suhu 37 °C. Pengukuran pada diameter kertas cakram dan luas zona bening di sekitar kertas cakram dilakukan dengan menggunakan jangka sorong

III. HASIL

Pengamatan terhadap zona bening yang terbentuk pada ekstrak etanolik teripang 5%, 10%, dan 15% menunjukkan tidak ada zona bening yang terbentuk pada seluruh isolat bakteri (Bs, Sa, Pa, Ec, Bc, dan St) maupun khamir (Ca) (Gambar 1). Hal yang berbeda ditunjukkan pada kontrol antibiotik tetrasiklin dan flukonazol yang menunjukkan adanya zona bening pada seluruh isolat bakteri dan khamir. Tidak adanya zona bening pada kontrol tanpa penambahan ekstrak etanolik teripang maupun antibiotik menandakan validitas dari penelitian ini.



Gambar 1. Grafik Zona bening dari ekstrak teripang E1: 5%, E2: 10%, E3: 15% terhadap Bs: *Bacillus subtilis*, Sa: *Staphylococcus aureus*, Pa: *Pseudomonas aeruginosa*, Ec: *Escherichia coli*, Bc: *Burkholderia cepacia*, St: *Salmonella typhimurium*, dan Ca: *Candida albicans*. C: Kontrol Negatif, Tc: Tetrasiklin, Fc: Flukonazol.

Zona bening pada kultur mikroorganisme dalam media MHA dengan metode Kirby-Bauer adalah merupakan aktivitas antimikroba pada sampel. Aktivitas antimikroba pada sampel akan menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme yang telah disebarkan pada permukaan medium MHA di sekitar kertas cakram (Bauer et al., 1959). Aktivitas antimikroba pada teripang merupakan aktivitas alami yang merupakan respon imunitas terhadap serangan mikroorganisme patogen yang dapat berbahaya bagi tubuh. Respon pertahanan terhadap patogen melibatkan ekspresi dari beberapa gen termasuk diantaranya adalah peptida antimikroba (Xue et al., 2015). Peptida antimikroba adalah peptida pendek (8-50 asam amino) dengan berat molekul yang rendah. Sebagian besar peptida ini adalah kationik yang mengandung residu hidrofobik dan menunjukkan spektrum antimikroba yang luas (Broden, 2005; Hancock and Chapple, 1999; Nicolas and Mor, 2003). Beberapa kelas peptida antimikroba ditemukan pada mamalia, arachnida, amfibi, tumbuhan, fungi, dan mikroorganisme bersel satu (Shah et al., 2016).

Aktivitas antimikroba pada peptida antimikroba dapat dipengaruhi oleh pemanasan, enzim proteolitik, dan senyawa kimia seperti xylol (Bizani et al., 2005). Teripang kering yang didapat dari Ujung Pangkah Gresik telah melalui proses perebusan sehingga dapat menghilangkan aktivitas dari peptida antimikroba. Aktivitas antimikroba yang dapat disebabkan oleh senyawa lain seperti saponin terpenoid, saponin, dan fenol (Sukmiwati et al., 2020) juga tidak didapatkan dari proses preparasi ini. Aktivitas penghambatan mikroba pada kontrol tetrasiklin disebabkan oleh pengikatan region lestarti pada 16S RNA ribosom (rRNA) pada subunit ribosom 30S. Pengikatan tersebut menyebabkan penghalangan terhadap penempelan amino acyl-transfer RNA (tRNA) selama elongasi. Selain itu tetrasiklin juga dapat menghambat pembentukan *double stranded* RNA (dsRNA) yang menyebabkan rentang hambatan tetrasiklin menjadi lebih luas. Rentang hambatan

tetrasiklin meliputi bakteri patogen, virus, protozoa, dan helminthes yang merupakan implikasi dari penghambatan pembentukan dsRNA (Chukwudi, 2016).

Aktivitas penghambatan pada kontrol flukonazol disebabkan oleh mekanisme hambatan flukonazol yang menghambat sintesis ergosterol pada *C. albicans* (Pereira De Sousa et al., 2016). Sedangkan aktivitas hybrid dari flokonazol dapat menghambat cytochrome P450 14 α -demethylase (CYP51) pada bakteri dan fungi yaitu *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* dan *P. aeruginosa*, dan fungi patogen *C. albicans* dan *Aspergillus niger* (Borade et al., 2021).

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanolik teripang kering dari Ujung Pangkah Gresik yang diperoleh dari Ujung Pangkah Gresik tidak memberikan zona bening bagi isolat bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Burkholderia cepacia*, *Salmonella typhimurium*, dan khamir *Candida albicans*. Tidak adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak etanolik teripang kering ini karena preparasi yang melibatkan proses perebusan pada teripang sebelum dijemur yang dapat menghilangkan aktivitas peptida antimikroba pada ekstrak etanolik teripang kering.

DAFTAR PUSTAKA

- Bauer, A.W., Perry, D.M., Kirby, W.M.M., 1959. Single-Disk Antibiotic-Sensitivity Testing of Staphylococci: An Analysis of Technique and Results. *A.M.A. Archives of Internal Medicine* 104, 208–216.
- Bizani, D., Dominguez, A.P.M., Brandelli, A., 2005. Purification and partial chemical characterization of the antimicrobial peptide cerein 8A. *Letters in Applied Microbiology* 41, 269–273.
- Borade, N.A., Saple, S.R., Gaikwad, N.D. and Jadhav, S.D., 2021. Hybrids Of Fluconazole: Synthesis and Antimicrobial Activity. *NVEO-Natural Volatiles & Essential Oils Journal*, 8573-8584.
- Brogden, K.A., 2005. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria. *Nature reviews microbiology*, 3(3), 238-250.
- Chen, S., Hu, Y., Ye, X., Li, G., Yu, G., Xue, C., Chai, W., 2012. Sequence determination and anticoagulant and antithrombotic activities of a novel sulfated fucan isolated from the sea cucumber *Isostichopus badionotus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1820, 989–1000.
- Chukwudi, C.U., 2016. rRNA binding sites and the molecular mechanism of action of the tetracyclines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 60, 4433–4441.
- Ortiz-Vazquez, E., Rodriguez-Canul, R. and Olivera-Castillo, L., 2013. Antimicrobial activity of aqueous extracts of sea cucumber (*Isostichopus badionotus*) from the coast of Yucatan, Mexico. *African Journal of Microbiology Research*, 7(28), 3621-3626.
- Hancock, R.E.W., Chapple, D.S., 1999. Peptide antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, 1317–1323.
- Kiani, N., Heidari, Behrooz, Rassa, M., Kadkhodazadeh, M., Heidari, Bijan, 2014. Antibacterial activity of the body wall extracts of sea cucumber (Invertebrata; Echinodermata) on infectious oral streptococci. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 25, 367–373.
- Liu, X., Sun, Z., Zhang, M., Meng, X., Xia, X., Yuan, W., Xue, F., Liu, C., 2012. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of polysaccharides from sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Carbohydrate Polymers* 90, 1664–1670.

- Muniroh, A., Amin, M.N., 2020. Perempuan Dan Sekolah Lapang Hasil Laut. Engagement: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat 4, 116–137.
- Nicolas, P. and Mor, A., 1995. Peptides as weapons against microorganisms in the chemical defense system of vertebrates. Annual review of microbiology, 49(1), 277-304.
- Sousa, J., Costa, A., Leite, M., Guerra, F., Silva, V., Menezes, C., Pereira, F. and Lima, E., 2016. Antifungal activity of citral by disruption of ergosterol biosynthesis in fluconazole resistant *Candida tropicalis*. International Journal of Tropical Disease Health, 11(4), 1-11.
- Shah, P., Hsiao, F.S.H., Ho, Y.H., Chen, C.S., 2016. The proteome targets of intracellular targeting antimicrobial peptides. Proteomics 16, 1225–1237.
- Shakouri, A., Shoushizadeh, M.R., Nematpour, F., 2017. Antimicrobial activity of sea cucumber (*Stichopus variegatus*) body wall extract in Chabahar Bay, Oman sea. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 12.
- Sukmiwati, M., Ilza, M., Putri, A.E., Sidauruk, S.W., 2020. Antibacterial activity of sea cucumber (*Holothuria atra*) against *Pseudomonas aeruginosa*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 404, 012047.
- Syamsulina, R., Rizal, M., Rochyani, L., 2012. Composition of organic and inorganic compounds of *Holothuria Scabra* and *Stichopus Hermanii* that Biocompatible with the pulp tissue.
- Utami, T.N. and Indrayani, E., 2018. Komoditas Perikanan. Universitas Brawijaya Press.
- Sadegh Vishkaei, M., Ebrahimpour, A., Abdul-Hamid, A., Ismail, A. and Saari, N., 2016. Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory and anti-hypertensive effect of protein hydrolysate from *Actinopyga lecanora* (Sea Cucumber) in rats. Marine drugs, 14(10), 176.
- Wang, Z., Zhang, H., Yuan, W., Gong, W., Tang, H., Liu, B., Krohn, K., Li, L., Yi, Y., Zhang, W., 2012. Antifungal nortriterpene and triterpene glycosides from the sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka. Food Chemistry 132, 295–300.
- Wargasetia, T.L., Permana, S., Widodo, 2018. The Role of Sea Cucumber Active Compound and Its Derivative as an Anti-Cancer Agent. Current Pharmacology Reports 2018 4:1 4, 27–32.
- Xue, Z., Li, H., Wang, X., Li, X., Liu, Y., Sun, J., Liu, C., 2015. A review of the immune molecules in the sea cucumber. Fish & Shellfish Immunology 44, 1–11.
- Zhang, J.J., Zhu, K.Q., 2017. A novel antitumor compound nobiliside d isolated from sea cucumber (*Holothuria nobilis* Selenka). Experimental and Therapeutic Medicine 14, 1653–1658

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
24 Maret 2022	30 Maret 2022	02 April 2022	Ya