

Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Jeroan Teripang *Holothuria atra* Dari Perairan Pulau Biawak Kabupaten Indramayu

Dewi Oktaviani, Yeni Mulyani, dan Emma Rochima
Universitas Padjadjaran

Abstrak

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada jeroan teripang *Holothuria atra* dan potensinya sebagai antioksidan dan antibakteri. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2014 s/d Mei 2015 di Laboratorium Bioteknologi Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental di laboratorium yang terbagi menjadi dua tahap. Tahap pertama ekstraksi dengan metode maserasi dan identifikasi metabolit sekunder dilanjutkan tahap kedua uji antioksidan menggunakan metode DPPH dan uji antibakteri menggunakan metode difusi agar. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa ekstrak jeroan teripang *H. atra* memiliki nilai rendemen 4,177% dan mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid dan saponin. Nilai IC₅₀ ekstrak jeroan teripang *H. atra* 126,19 ppm termasuk antioksidan kategori sedang dan diameter zona hambat ekstrak jeroan teripang *H. atra* 7,79 mm pada konsentrasi 10.000 ppm sehingga termasuk antibakteri kategori sedang.

Kata Kunci: *Antioksidan, Antibakteri, Holothuria atra, Metabolit Sekunder*

Abstract

This research was conducted to find out the content of secondary metabolites on sea cucumber *Holothuria atra* internal organ and its potential as an antioxidant and antibacterial. This research was carried out in November 2014 – May 2015 in Marine Biotechnology Laboratory of the Faculty of Fisheries and Marine Science, Padjadjaran University. This research uses experimental methods in laboratory that is divided into two stages. The first stage extraction with maseration method and identification of secondary metabolites the second stage continue antioxidant test use DPPH method and antibacterial test use agar disk diffusion assay. The conclusions of this research that extract of sea cucumber *H. atra* internal organ has a value of yield 4.177% and contains a compound alkaloids, triterpenoids and saponins. The value of IC₅₀ extract sea cucumber *H. atra* internal organ was about 126.19 ppm include antioxidant medium category and diameter of inhibition zone extract of sea cucumber *H. atra* internal organ 7.79 mm at 10000 ppm concentration include antibacterial medium category.

Keywords: *Antioxidant, Antibacterial, Holothuria atra, Secondary Metabolites*

Pendahuluan

Teripang keling (*Holothuria atra*) jenis teripang yang sangat umum ditemukan di daerah tropik mempunyai densitas 5-35 individu/m² (Bakus 1973 dalam Darsono 2003). Teripang dengan spesies *Holothuria atra* merupakan salah satu biota yang ada di Pulau Biawak, Indramayu. Identifikasi teripang saat ini berkembang dengan memanfaatkan daging teripang. Tubuh teripang secara umum mengandung zat metabolit sekunder sedangkan pemanfaatan jeroan teripang saat ini masih belum banyak dilakukan. Proses pengolahan teripang pada bagian jeroan yang berupa usus, gonad serta organ-organ lain dibuang begitu saja. Keadaan ini mendorong untuk diusahakan cara pemanfaatannya (Suhanda 2001).

Identifikasi kandungan metabolit sekunder merupakan langkah awal yang penting dalam penelitian pencarian senyawa bioaktif baru dari bahan alam yang dapat menjadi prekursor bagi sintesis obat baru atau prototipe obat beraktivitas tertentu (Harborne 2006 dalam Rasyid 2012).

Meningkatnya penggunaan antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA) tidak baik untuk dikonsumsi manusia (Sari 2013). Penambahan BHT dalam bahan makanan diduga dapat menyebabkan kanker dan mutasi gen pada manusia (Rita *et al.* 2009 dalam Permatasari 2011) oleh sebab itu, maka antioksidan alami diharapkan dapat menjadi solusi dari permasalahan tersebut serta meningkatnya penggunaan antibiotik dalam mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri mulai menimbulkan masalah baru, terutama karena sebagian besar bahan antibakteri yang digunakan merupakan zat kimia berbahaya dan sifatnya tidak aman bagi kesehatan (Nimah *et al.* 2012 dalam Rasyid 2012). Sampai saat ini penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri masih mengandalkan antibiotik sintetik. Hal ini menimbulkan kekhawatiran akan munculnya strain bakteri baru yang resisten terhadap antibiotik (Tirtodiharjo 2011 dalam Rasyid 2012).

Hasil identifikasi golongan metabolit sekunder pada daging *Holothuria atra* terhadap ekstrak metanol yakni alkaloid, triterpenoid, steroid dan saponin (Septiadi *et al.* 2013), senyawa-senyawa tersebut menunjang untuk dijadikan sebagai antioksidan dan antibakteri alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder, pengujian potensi antioksidan dan antibakteri jeroan teripang (*Holothuria atra*). Hasil penelitian

ini diharapkan memperoleh informasi tentang senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam jeroan *Holothuria atra* yang dapat menjadi acuan sebagai biota yang mempunyai bahan bioaktif dengan kemampuan antioksidan atau antibakteri.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2014 sampai Mei 2015 di Laboratorium Bioteknologi Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Padjadjaran (Unpad) dan Pengambilan sampel dilaksanakan di Pulau Biawak Kabupaten Indramayu.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental dan dianalisa secara deskriptif. Penelitian ini terbagi menjadi dua tahap, tahap pertama yakni pemisahan daging dengan jeroan kemudian pada jeroan teripang dilakukan identifikasi metabolit sekunder dan ekstraksi. Tahap yang kedua adalah identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak jeroan teripang, uji aktivitas antioksidan dan uji aktivitas antibakteri.

Pengambilan dan Perisapan Sampel

H. atra diambil dari perairan Pulau Biawak dengan panjang seragam 20-30 cm kemudian langsung dipisahkan dari daging dan jeroannya menggunakan gunting, cara memisahkan yakni dipotong dari bagian posterior ke anterior dan dibawa ke laboratorium menggunakan *coolbox*.

Ekstraksi Sampel

Jeroan yang telah dihaluskan kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 30-40°C, setelah kering kemudian ditimbang sebanyak 100 g dan direndam dengan pelarut metanol sebanyak 500 ml selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi yang berupa larutan kemudian disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi hingga diperoleh ekstrak pekat dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C – 60°C sedangkan pada residu dilakukan pengulangan perendaman sampai tidak berwarna lagi, dari proses ini maka diperoleh ekstrak pekat metanol jeroan *H. atra*.

Identifikasi Metabolit Sekunder

Identifikasi metabolit sekunder menggunakan uji kualitatif fitokimia dengan prinsip reaksi warna, pengendapan, serta pembentukan busa (Harbone 1987 dalam Sari 2013), meliputi pengujian alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, fenol, saponin dan tanin (Harbone 1987).

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (Blois 1958 dalam Sari 2013) pada berbagai konsentrasi sampel (50, 100, 200, 400, 800 dan 1000 ppm) serta menggunakan Vitamin C (asam askorbat) dengan konsentrasi (0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm) sebagai pembanding dengan prinsip penyerapan hidrogen oleh radikal bebas dari antioksidan ditunjukkan dengan nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Perhitungan yang digunakan adalah nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*) yang diperoleh dari hasil persamaan regresi linier. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dimilikinya (Molyneux 2004).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (*Agar Disk-Diffusion Assay*) (Lay 1994 dalam Rasyid 2012). Prinsip dari uji antibakteri ini adalah terbentuknya diameter zona hambat yang kemudian diukur menggunakan jangka sorong. Konsentrasi yang digunakan pada ekstrak jeroan *H. atra* yakni 100.000, 10.000, 1000, 100 dan 10 ppm. Pelarut dalam hal ini akuades digunakan sebagai kontrol negatif sedangkan sebagai kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol. Adapun pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali.

Bakteri patogen yang digunakan yakni *Vibrio harveyi*, untuk mendapatkan kepadatan 10^5 CFU/ml digunakan Mc.Farland 0,5 sebagai pembanding. Setelah media agar dibuat dan siap dipakai, masukkan bakteri uji yang telah diukur kepadatannya kemudian letakkan *paper disk* yang telah direndam sebelumnya pada ekstrak jeroan

teripang *H. atra* dengan jarak yang luas dan tidak saling berhimpitan, diinkubasi pada suhu tumbuh optimal yakni $30^{\circ}C$ dari bakteri patogen yang sedang diujikan dan pengamatan dilakukan selama 24 jam. Setelah bakteri uji sudah tumbuh merata dan terlihat adanya zona hambat di permukaan agar, maka luas zona hambat dapat diukur dengan mengukur diameternya menggunakan jangka sorong.

Hasil Dan Pembahasan

Ekstraksi

Sampel jeroan teripang *H. atra* yang digunakan yakni 100 gram dalam keadaan kering setelah dilakukan perendaman dengan pelarut menghasilkan total filtrat sebanyak 1719 ml dan berwarna kuning. Rendemen yang didapat pada jeroan *H. atra* ini hanya sekitar 4,177% hal ini menunjukkan kadar metabolit sekunder yang terkandung dalam jeroan *H. atra*.

Identifikasi Metabolit Sekunder

Kandungan metabolit sekunder dari jeroan teripang *Holothuria atra* diidentifikasi melalui uji fitokimia. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Verpoorte & Alfermann 2000 dalam Rasyid 2012). Hasil identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak jeroan teripang *H. atra* mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, triterpenoid dan saponin dengan kadar yang lemah (Tabel 1) menurut Septiadi, dkk (2013) senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kasar *H. atra* dengan menggunakan metode uji fitokimia yakni alkaloid, steroid, triterpenoid dan saponin. Uji fitokimia ekstrak metanol jeroan *H. atra* tidak terdeteksi adanya steroid hal ini bisa terjadi karena beberapa faktor diantaranya suhu yang terlalu tinggi pada saat proses evaporasi dan pereaksi yang digunakan.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Metabolit Sekunder pada Ekstrak Jeroan Teripang *H. atra*

Uji Metabolit Sekunder		
Senyawa Metabolit Sekunder		Hasil
	Pereaksi Dragendrof	-
Alkaloid	Pereaksi Wagner	+
	Pereaksi Meyer	-
Flavonoid		-
Steroid		-
Triterpenoid		+
Polyfenol		-
Saponin		+
Tanin		-

Senyawa alkaloid menunjukkan hasil positif pada pereaksi Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning, diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid, sedangkan hasil positif pada senyawa triterpenoid ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah bata dengan kadar yg lemah. Timbulnya busa pada uji saponin menandakan hasil positif serta menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Rusdi 1990 dalam Marlina, dkk 2005), pada ekstrak metanol *H. atra* terbentuk busa stabil setinggi 2 cm yang menunjukkan adanya kandungan saponin. Bordbar *et al.* (2011) menyebutkan bahwa teripang kaya akan glikosida terutama triterpen glikosida yang terbukti memiliki aktivitas antimikroba dan

antitumor. Triterpen glikosida yang berada dalam teripang yakni holothurin A dan B.

Aktivitas Antioksidan Jeroan Teripang Holothuria atra

Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak jeroan teripang *H. atra* memiliki IC₅₀ sebesar 129,19 ppm (Tabel 2), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mempunyai kemampuan antioksidan yang sedang. Suatu senyawa dikatakan memiliki kemampuan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm (kategori 1), kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm (kategori 2), sedang apabila nilai IC₅₀ antara 100-150 ppm (kategori 3), lemah apabila nilai IC₅₀ antara 150-200 ppm (kategori 4) dan sangat lemah apabila nilai IC₅₀ lebih dari 200 ppm (kategori 5) (Molyneux 2004).

Tabel 2. Nilai IC₅₀ Ekstrak Jeroan Teripang *H. atra* dan Vitamin C

No	Sampel/Vitamin C	Konsentrasi IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
1	Vitamin C	2,33	Sangat Kuat
2	Jeroan <i>H. atra</i>	126,19	Sedang

Tabel diatas menunjukkan ekstrak jeroan teripang *H. atra* mampu menangkal radikal bebas 50% pada konsentrasi 126,19 ppm dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif mampu menangkal radikal bebas 50% pada konsentrasi 2,33 ppm maka potensi jeroan *H. atra* masih sangat jauh. Setiap jenis teripang memiliki kemampuan antioksidan yang berbeda-beda dikarenakan kandungan metabolit sekunder yang terkandung didalam setiap jenis teripang berbeda terutama pada kandungan senyawa fenolik dan alkaloid yang bertanggungjawab sebagai antioksidan.

Aktivitas Antibakteri Jeroan Teripang Holothuria Atra

Hasil penelitian antibakteri ekstrak jeroan teripang *H. atra* menunjukkan rendahnya aktivitas antibakteri ekstrak metanol *H. atra* terhadap *Vibrio harveyi*. Zona hambat yang terbentuk paling besar yakni 7,79 mm pada konsentrasi ekstrak 10.000 ppm (Tabel 3). Hal ini terjadi karena kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak metanol jeroan *H. atra* memiliki kadar yang sedikit. Kandungan metabolit yang berperan

didalam antibakteri yakni saponin dan triterpenoid. senyawa turunan terpenoid memiliki aktivitas sebagai antimikroba yaitu monoterpenoid, diterpenoid (-), triterpenoid, saponin dan triterpenoid glikosida (Gunawan 2007 dalam Septiadi, dkk 2013). Selain golongan senyawa terpenoid senyawa aktif yang berfungsi sebagai

antibakteri adalah saponin. Saponin merupakan golongan senyawa yang dapat menghambat atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Efek utama saponin terhadap mikroba adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel (Hardiningtyas 2009 dalam Septiadi, dkk 2013).

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Ekstrak Jeroan *H. atra* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Diameter Zona Hambat (mm)		Diameter Rata-rata (mm)	Ket
	I	II		
Kontrol Positif	21,54	20,83	14,12	Kuat
Kontrol Negatif	0	0	0	Tidak ada
100.000	10,05	5,88	5,31	Sedang
10.000	15,35	8,02	7,79	Sedang
1000	0,63	0,60	0,41	Lemah
100	0,39	0,68	0,35	Lemah
10	0	0	0	Tidak ada

Hasil pada tabel 3 menunjukkan rendahnya aktivitas antibakteri ekstrak metanol *H. atra* terhadap *Vibrio harveyi*. Zona hambat yang terbentuk paling besar yakni 7,79 mm pada konsentrasi ekstrak 10.000 ppm. Hal ini terjadi karena kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak metanol jeroan *H. atra* memiliki kadar yang sedikit.

Rendahnya metabolit sekunder di dalam ekstrak metanol jeroan *H. atra* menjadi faktor utama dalam rendahnya aktivitas antibakteri terhadap *V. harveyi* selain itu *V. harveyi* mempunyai karakteristik sebagai bakteri gram negatif karena mikroba gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba. Mikroba gram negatif memiliki sistem seleksi terhadap zat-zat asing yaitu pada lapisan lipopolisakarida. Struktur dinding sel mikrobagram negatif relatif lebih kompleks, berlapis tiga yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan (Zuhud et al. 2001 dalam Purwani, dkk 2009).

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak metanol jeroan teripang *Holothuria atra* memiliki nilai rendemen 4,177% dan

mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, triterpenoid dan saponin.

2. Aktivitas antioksidan jeroan teripang *Holothuria atra* memiliki nilai IC₅₀ 126,19 ppm sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan alami kategori sedang dan aktivitas antibakteri pada jeroan *Holothuria atra* memiliki diameter zona hambat 7,79 mm pada konsentrasi 10.000 ppm sehingga berpotensi sebagai sumber antibakteri alami kategori sedang.

Saran

Berikut beberapa hal yang disarankan dari penelitian ini yakni perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi antioksidan dan antibakteri dapat dilakukan pada fraksi jeroan *Holothuria atra* dan perlu dilakukan uji lanjutan *in vivo* dan pada uji antibakteri menggunakan mikroba spesifik untuk kesehatan.

Daftar Pustaka

- Brodbar, S., Farooq, A., dan Nazamid, S. 2011. *High Value Components and Bioactives from Sea Cucumber for Functional Food – A Review*. www.mdpi.com/journal/marinedrugs

- Darsono, P. 2003. *Sumberdaya Teripang dan Pengelolaannya*. Oseana, Volume XXVIII, Nomor 2, 2003: 1-9 ISSN 0216-1877
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia. Edisi Kedua*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Terjemahan dari *phytochemical methods 2nd edition*. Institut Teknologi Bandung, Bandung. 353 Hlm.
- Molyneux, P. 2004. *The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioksidan Activity*. Songklanakarin Journal Science Technology. 26 (2):211-219.
- Permatasari, E. 2011. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif pada Selada Air (*Nasturtium officinale* L. R. Br)*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Purwani, E., Retraningtyas, D. W. 2009. *Pengembangan Pengawet Alami dari Ekstrak Lengkuas, Kunyit dan Jahe pada Daging dan Ikan Segar*. Laporan Penelitian. Fakultas Ilmu Kedokteran, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Rasyid, A. 2012. *Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus hermannii**. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis, Vol. 4, No. 2. Pusat Penelitian Oseanografi LIPI. Jakarta.
- Sari, N. D. S. 2013. *Potensi Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* dari Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu sebagai Antioksidan dan Aktivitasnya dalam Menghambat Pembentukan Peroksida*. Skripsi. Program Studi Ilmu Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- 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**. Skripsi. Program Studi Ilmu Kelautan FPIK Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suhanda, A. 2001. *Pemanfaatan Potensi Limbah Jeroan Teripang Sebagai Bahan Untuk Pakan Ternak*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.