

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TERIPANG
CEMPEDAK (*Bohadschia marmorata*) TERHADAP
BAKTERI UJI *Escherichia coli* dan *Staphylococcus
aureus* dengan METODE KLT – BIOAUTOGRAFI**

**DIAN CYNTHIA SARI
N111 04 427**



PERPUSTAKAAN UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terbit	21 - 12 - 09
Judul	Farmani
Barang	1 cd
Marga	Hasanudin
No. Inventaris	83
No. Kls.	

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TERIPANG CEMPEDAK
(*Bohadschia marmorata*) TERHADAP BAKTERI UJI *Escherichia coli*
dan *Staphylococcus aureus* dengan METODE KLT – BIOAUTOGRAFI**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**DIAN CYNTHIA SARI
N111 04 427**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang bertujuan untuk menguji kemampuan senyawa bioaktif dari Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) yang berpotensi menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode KLT – Bioautografi. Penelitian ini meliputi penyarian dengan metode maserasi menggunakan cairan penyari metanol. Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 30%, 50% dan 70% b/v serta air suling steril sebagai kontrol. Penelitian dan pengukuran diameter hambatan yang terbentuk dari ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi pada medium Mueller Hinton Agar (MHA) dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. setelah itu, dilanjutkan dengan analisis Kromatografi Lapis Tipis. Dari beberapa konsentrasi yang digunakan, maka konsentrasi 70% yang memberikan diameter hambatan terbesar pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pemisahan secara KLT – Bioautografi dengan eluen kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) diperoleh 1 noda dengan nilai Rf 0,68 yang aktif menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan nilai Rf 0,89 serta cairan pengelusi heksana : etil asetat (7 : 1) untuk *Escherichia coli* dengan nilai Rf 0,81 dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai Rf 0,57.

Kata kunci : Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*), Antibakteri, KLT – Bioautografi.

ABSTRACT

The research of an antimicrobial assay effect of extract Tigerfish (*Bohadschia marmorata*) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* have been conducted the aim of this research was to test Tigerfish (*Bohadschia marmorata*) bioactive compounds ability that potentially inhibit *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* growth using TLC – Bioautographic method. The extraction with maceration method using methanol as solvent. Concentration of extract are 30%, 50%, 70% and using aquadest as control. The research and measurement of resistance diameters which formed by extract of Tigerfish (*Bohadschia marmorata*) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* observed using agar diffusion method on Mueller Hinton Agar (MHA). Methanol extract of 70% show the highest inhibitory effect to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The result of TLC – Bioautographic with eluen chloroform-methanol-aquadest (10 : 3 : 0.5) is obtain one active spot with the value of Rf 0.68 for *Staphylococcus aureus* and for *Escherichia coli* with the value of Rf 0.89. While, the elution of hexan-etil acetate (7 : 1) for *Escherichia coli* with the value of Rf 0.81 and for *Staphylococcus aureus* with the value of Rf 0.57.

Key words : Tigerfish (*Bohadschia marmorata*), Antibacteria, TLC – Bioautographic.

3. Bapak/Ibu Kepala Laboratorium di lingkungan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala ilmu pengetahuan yang diberikan selama menuntut pendidikan.
5. Teman-teman Farmasi angkatan 2004, yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu. Terima kasih atas bantuan, dukungan dan waktu yang sudah kita lewati bersama. Segala sesuatu menjadi lebih indah jika bersama kalian.
6. Teman-teman Tefilla, Rina, Irianti, Catharina, Mellyne, Cathy, Restu dan semua rekan-rekan kelompok VI yang telah membuatku merasakan kasih persaudaraan. Doa-doa kalian memaksa surga mencurahkan berkat untukku.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang tiada terhingga untuk kedua orang tua tercinta, Ayahanda Naboth Pallangan dan Ibunda Dorce Sundun, adikku Didiet dan Debby atas kasih sayang dan doa yang tidak pernah putus sepanjang hidupku.

Akhirnya penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis mengucapkan terima kasih atas saran dan kritiknya, semoga skripsi ini bermanfaat.

Tuhan memberkati, Amin!

Makassar, 2009

Dian Cynthia Sari

DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>).....	4
II.1.1 Klasifikasi.....	4
II.1.2 Morfologi.....	4
II.1.3 Kandungan.....	8
II.1.4 Pengolahan Teripang Kering.....	9
II.2 Uraian Bakteri Uji.....	15
II.2.1 <i>Escherichia coli</i>	15
II.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
II.3 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	18
II.4 Metode Ekstraksi Bahan Alam.....	20
II.4.1 Pengertian dan Tujuan Ekstraksi.....	20

II.4.2 Ekstraksi secara Maserasi.....	20
II.5 Metode Pemisahan.....	21
II.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	21
II.5.2 Identifikasi dan Harga Rf (Retardation Factor).....	23
II.5.3 Uraian Metode Bioautografi.....	25
II.6 Pengujian Secara Mikrobiologis.....	28
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	31
III.1 Alat dan Bahan.....	31
III.2 Identifikasi Sampel.....	31
III.3 Metode Kerja.....	33
III.3.1 Pengambilan Sampel.....	33
III.3.2 Pengolahan Sampel.....	33
III.3.3 Ekstraksi Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>)	33
III.3.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>).....	34
III.3.5 Penyiapan Alat dan Bahan.....	35
III.3.5.1 Sterilisasi Alat.....	35
III.3.5.2 Pembuatan Medium.....	35
III.3.6 Penyiapan Mikroorganisme Uji.....	36
III.3.6.1 Peremajaan mikroorganisme Uji.....	36
III.3.6.2 Pembuatan Suspensi Mikroorganisme Uji.....	36
III.3.7 Pengujian Ekstrak Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>).....	37
III.3.7.1 Penentuan Daerah Hambatan.....	37

III.3.7.2 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis	37
III.3.7.3 Pengujian Secara KLT – Bioautografi.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
IV.1 Hasil Penelitian.....	39
IV.2 Pembahasan.....	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
V.1 Kesimpulan.....	45
V.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan gizi teripang.....	9
2. Hasil Pengukuran Diameter Hambatan Ekstrak Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>) secara Maserasi terhadap Bakteri Uji.....	39
3. Hasil Pemisahan Senyawa kimia Ekstrak Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>) dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	52
4. Hasil Pengujian Senyawa kimia Ekstrak Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>) secara KLT – Bioautografi.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Teripang.....	6
2. Diagram alur proses pengolahan dan pengeringan teripang...	14
3. Zona hambatan ekstrak Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>) terhadap bakteri uji dengan masa inkubasi 1 x 24 jam.....	51
4. KLT ekstrak Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>) dengan penampak noda sinar UV 366 nm.....	52
5. Bioautogram dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	54
6. Bioautogram dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) terhadap <i>Escherichia coli</i>	54
7. Bioautogram dengan menggunakan eluen heksana : etil asetat (7 : 1) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	55
8. Bioautogram dengan menggunakan eluen heksana : etil asetat (7 : 1) terhadap <i>Escherichia coli</i>	55

BAB I

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara kepulauan memiliki garis pantai sepanjang lebih kurang 81.000 km dan wilayah laut yang sangat luas. Hal ini menjadikan perairan Indonesia memiliki potensi kekayaan alam laut yang besar dengan tingkat keragaman hayati yang tinggi, dimana di dalamnya terdapat berbagai jenis organisme laut. Pemanfaatan organisme laut ini tidak hanya terbatas sebagai bahan makanan, tetapi juga sebagai sumber bahan kimia alam yang berpotensi sebagai obat. Beberapa organisme laut mampu memproduksi senyawa kimia tersebut untuk mempertahankan dirinya dari serangan predator. Senyawa kimia dengan bioaktivitas menarik ini diduga dapat dimanfaatkan manusia khususnya di bidang pengobatan. Hasil penelitian menunjukkan banyak dari senyawa kimia tersebut berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri (1).

Organisme laut yang banyak diteliti kandungannya pada umumnya dari kelompok invertebrata laut disusul kemudian tumbuhan laut (2) salah satu diantaranya, yaitu teripang. Komoditas perikanan ini mempunyai prospek cukup baik dan bernilai ekonomis tinggi, baik di pasar lokal maupun internasional. Jenis biota ini dikenal pula dengan nama ketimun laut, *suala*, *sea cucumber* (Inggris), *beche-de-mer* (Perancis), atau dalam istilah pasaran internasional dikenal dengan nama *teat fish* (3).

Dari beberapa jenis teripang, hanya tiga genus yang ditemukan di perairan pantai Indonesia. Ketiga genus tersebut adalah *Holothuria*,

Muelleria, dan Stichopus. Dari ketiga genus tersebut ditemukan sebanyak 23 spesies dan baru lima spesies (dari genus *Holothuria*) yang sudah dieksploitasi dan dimanfaatkan serta mempunyai nilai ekonomis penting. Teripang-teripang ekonomis tersebut adalah teripang putih atau teripang pasir (*Holothuria scabra*), teripang hitam (*Holothuria edulis*), teripang getah atau keling (*Holothuria vacabunda*), teripang merah (*Holothuria vatiensis*), dan teripang coklat (*Holothuria marmorata*). Sementara teripang jenis *Bohadschia marmorata* (genus *Bohadschia*) yang banyak ditemukan di daerah Papua mulai diperdagangkan pada awal dekade 1980-an (3, 4).

Analisis zat gizi teripang menunjukkan bahwa bagian tubuh dan usus teripang mengandung nutrisi yang tinggi. Bagian tubuh teripang (*body wall*) mengandung kolagen, asam amino, dan mineral. Protein yang terkandung di dalam teripang kering lebih dari 80%. Meskipun protein dalam teripang tinggi, tetapi kandungan lemaknya rendah, sehingga teripang merupakan makanan sehat yang aman dikonsumsi (5).

Hasil penelitian yang dilakukan di Universitas Kebangsaan Malaysia (UKM) menunjukkan bahwa teripang *Holothuria atra*, *Holothuria scabra*, dan *Bohadschia argus* memiliki efek antibakteri. Dalam riset itu, digunakan bakteri *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pneumoniae*, dan *Proteus mirabilis*. Bakteri-bakteri tersebut terbukti terhambat pertumbuhannya setelah diberi ekstrak teripang (6). Namun, penelitian tentang efek antibakteri teripang *Bohadschia*

marmorata belum dilaporkan. Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta menentukan nilai Rf yang bersifat sebagai antibakteri setelah dilakukan pengujian dengan metode KLT – Bioautografi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*)

II.1.1 Klasifikasi (7)

Klasifikasi Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Echinodermata
Sub-filum	: Echinozoa
Kelas	: Holothuroidea
Sub-kelas	: Aspidochirotacea
Ordo	: Aspidochirotida
Famili	: Holothuriidae
Genus	: <i>Bohadschia</i>
Spesies	: <i>Bohadschia marmorata</i>

II.1.2 Morfologi

Teripang merupakan hewan invertebrata (tak bertulang belakang) yang termasuk filum Echinodermata (hewan berkulit duri). Meskipun demikian, tidak semua jenis teripang memiliki duri lunak di kulit tubuhnya. Ada beberapa jenis teripang yang tidak berduri. Duri-duri pada teripang sebenarnya merupakan rangka atau skelet yang tersusun dari zat kapur dan terletak di dalam kulitnya. Rangka dari zat kapur tersebut tidak dapat

dilihat dengan mata biasa. Oleh karena sangat kecil, rangka baru bisa dilihat dengan bantuan mikroskop (3, 5).

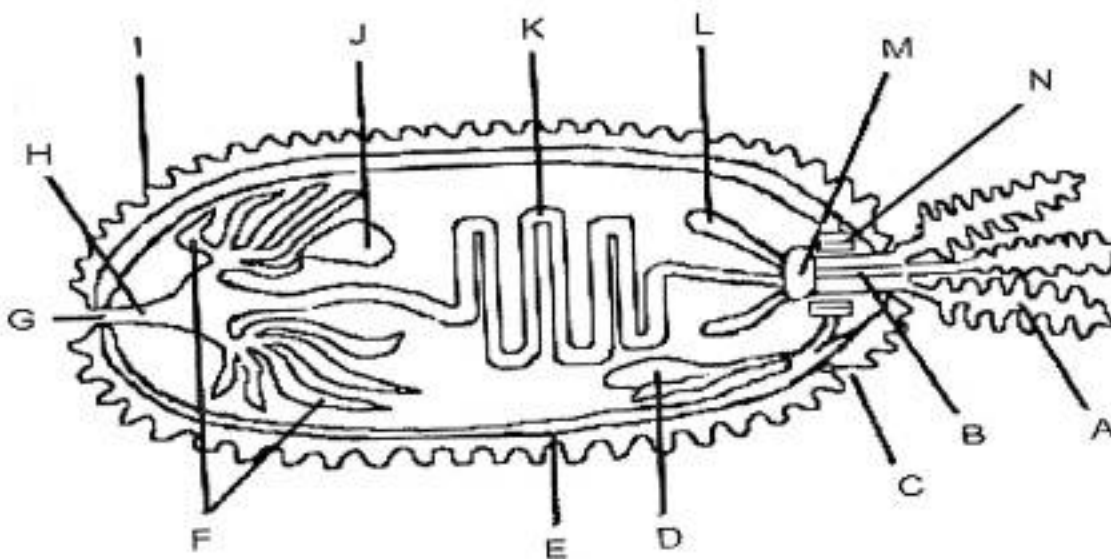
Selain teripang, binatang laut yang termasuk dalam filum Echinodermata, yaitu bintang laut (Asterozoa) dan bulu babi (Echinozoa). Di antara empat famili teripang, hanya famili Holothuriidae yang dapat dimakan dan bernilai ekonomis (3).

Tubuh teripang lunak, berdaging, dan berbentuk silindris memanjang seperti buah ketimun. Oleh karena itu, hewan ini dinamakan ketimun laut. Gerakan teripang sangat lamban sehingga hampir seluruh hidupnya berada di dasar laut. Warna tubuh teripang bermacam-macam, mulai dari hitam, abu-abu, kecokelat-cokelatan, kemerah-merahan, kekuning-kuningan, sampai putih (3).

Teripang termasuk jenis hewan *dioecious* yang berarti hewan berkelamin jantan terpisah dengan hewan berkelamin betina. Secara morfologis, pembedaan jenis kelamin sangat sulit dilakukan, kecuali dilakukan pembedahan gonad untuk diambil organ kelaminnya. Perbedaan akan tampak jelas bila dilihat di mikroskop dengan menyayat bagian organ kelamin jantan dan betina. Organ kelamin betina berwarna kekuning-kuningan dan berubah menjadi kecokelat-cokelatan bila sudah matang. Sementara organ kelamin jantan berwarna bening keputihan. Di alam, biasanya dalam satu gerombolan teripang terdiri dari teripang jantan dan betina sehingga tidak menyulitkan bila induk-induk tersebut diambil untuk dipijahkan (3).

Perkawinan teripang biasanya berlangsung secara eksternal atau di luar tubuh. Sel telur dan sperma masing-masing dihasilkan oleh individu betina dan jantan dengan cara disemprotkan. Telur yang sudah dibuahi akan menetas beberapa hari kemudian. Setelah itu, larva hidup di dasar perairan sampai menjadi juvenil (teripang muda) (3).

Bagian-bagian tubuh teripang, termasuk organ dalamnya, tidak begitu rumit. Secara garis besar, organ teripang dibagi menjadi beberapa bagian, yaitu:



Morfologi teripang

Gambar 1. Morfologi Teripang (Sumber: Ridzwan B. H., 2004. *Budidaya Teripang*, Penebar Swadaya, Jakarta, hal. 10).

Keterangan :

- A. Tentakel (rumbai-rumbai), sebagai alat peraba dan pengambil makanan yang berjumlah sekitar 10 buah.
- B. Mulut.
- C. Liang gonad.

- D. Gonad (organ kelamin).
- E. Sistem vaskuler air.
- F. Pokok-pokok pernapasan.
- G. Anus.
- H. Kloaka (lubang pengeluaran).
- I. Podium.
- J. Tubul cuvierian.
- K. Usus.
- L. Ampulla tentakel.
- M. Cincin air, mengelilingi farinks.
- N. Cincin berkapur, mengelilingi farinks.

Setiap jenis teripang memiliki ciri morfologi yang berbeda. Khususnya pada Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) tubuhnya cenderung gemuk, warnanya coklat muda kekuningan dengan belang-belang coklat melintang di bagian punggung. Teripang ini memiliki benang-benang getah (tubulus cuvier) yang merupakan alat proteksi (melindungi dirinya). Di Indonesia, *Bohadschia marmorata* dikenal dengan nama Teripang Cempedak, Olok-olok, Krido polos, dan Getah putih (7).

Teripang dapat ditemukan hampir di seluruh perairan pantai, mulai dari daerah pasang-surut yang dangkal sampai perairan yang lebih dalam. Teripang lebih menyukai perairan yang jernih dan airnya relatif tenang. Umumnya, masing-masing jenis memiliki habitat yang spesifik. Di

habitatnya, terdapat jenis teripang yang hidup berkelompok dan ada pula yang hidup soliter (sendiri) (3).

Sumber utama makanan teripang di alam, yaitu kandungan zat organik dalam lumpur, detritus (sisa pembusukan bahan organik), dan plankton. Jenis makanan yang lain adalah organisme-organisme kecil, massa bakteri yang terdapat dalam substrat, diatomae, protozoa, nematoda, algafilamen, kopepoda, strakoda, rumput laut, radiolaria, foraminifera, dan potongan-potongan kecil hewan maupun tumbuhan laut, serta partikel-partikel pasir. Namun, partikel pasir bukan makanan utama. Teripang sangat tergantung pada kondisi substrat di sekitarnya karena ruang geraknya relatif terbatas dan sangat lambat serta tidak mempunyai alat penguyah dan pemotong. Umumnya, bangsa *Aspidochirotida* merupakan pemakan deposit (*deposit feeder*). Namun, beberapa jenis di antara *Holothuria* sp. mempunyai jenis tentakel semidendrit atau peltatodendrit sehingga bisa mendapatkan makanan dari lumpur di sekitarnya dan aktif memanfaatkan (memakan) plankton langsung dari perairan (3).

II.1.3 Kandungan (5)

Sebagai bahan pangan, teripang memiliki nilai gizi yang tinggi dan cocok dikonsumsi sebagai tonikum. Hal ini disebabkan teripang memiliki kandungan protein yang tinggi sekaligus rendah lemak. Teripang mengandung protein lebih dari 80% yang sebagian besar berupa kolagen. Selain itu, protein dalam teripang sangat mudah dicerna oleh enzim



pepsin sehingga tidak memberatkan kerja sistem pencernaan. Kandungan gizi teripang secara lengkap dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 1. Kandungan gizi teripang

Komponen	Jumlah
Air	8,90%
Protein	82,00%
Lemak	1,70%
Abu	8,60%
Karbohidrat	4,80%
Kalsium	308,00 mg
Fosfor	23,00 mg
Zat besi	41,70 mg
Natrium	770,00 mg
Kalium	91,00 mg
Vitamin A	455,00 mg
Vitamin B	0,04 mg
Tiamin	0,07 mg
Riboflavin	0,40 mg
Niasin	-
Total kalori	385,00 kal/100 g

Sumber: Ditjen Perikanan. *Budi Daya dan pengolahan Teripang*. Jakarta. 1992. hal. 31

II.1.4 Pengolahan Teripang Kering (3, 5, 9)

Dengan semakin banyaknya masyarakat yang ingin memanfaatkan produk teripang, maka berkembang pula jenis pengolahan teripang tersebut. Teripang kering umumnya diolah secara tradisional oleh para nelayan dengan cara dan peralatan yang masih sederhana. Hal ini menyebabkan para nelayan mengalami kesulitan untuk menjaga kualitas produk teripang yang dihasilkan. Untuk mendapatkan mutu teripang yang baik, proses seleksi dan penanganan bahan baku, cara pengolahan, dan cara penyimpanan harus benar-benar diperhatikan. Mutu teripang yang baik dapat diperoleh dengan memerhatikan beberapa faktor penting berikut ini:

1. Seleksi dan Penanganan Bahan Baku

Teripang yang akan diolah sebaiknya dari jenis yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Selain itu, bahan baku teripang sebaiknya berupa teripang hidup yang ditangkap dari perairan yang bebas pencemaran. Mengingat teripang biasanya hidup di dasar perairan sehingga kemungkinan tercemar logam berat seperti merkuri (Hg), timbal (Pb), cadmium (Cd) selalu ada apabila perairan disekitarnya telah tercemar.

Penangkapan disarankan dengan cara yang tidak menimbulkan kerusakan fisik atau luka pada tubuh teripang. Adanya luka akan memengaruhi penampakan produk akhir. Teripang yang akan diolah sebaiknya dalam kondisi hidup, tetapi jika tidak memungkinkan bisa menggunakan teripang yang sudah mati. Namun, sesaat setelah ditangkap harus segera dilakukan penanganan pendahuluan yang meliputi pembuangan isi perut, pencucian, dan pemberian garam 3 – 10% dari berat teripang.

2. Pembuangan Isi Perut dan Pencucian

Pengeluaran isi perut sebaiknya dilakukan menggunakan pisau yang cukup tipis dan tajam. Caranya, bagian perut teripang dibelah (memanjang). Selanjutnya, semua isi perut dikeluarkan dan teripang langsung dicuci dengan air bersih atau air mengalir sampai bebas dari darah dan sisa isi perut.

3. Perebusan

Selanjutnya, teripang direbus di dalam air mendidih dengan konsentrasi garam 15% selama 20 – 30 menit, tergantung dari besar dan jumlah teripang. Perebusan ini bertujuan membuat tekstur teripang menjadi kenyal, memberikan sedikit rasa asin, sekaligus berfungsi untuk membunuh dan mencegah tumbuhnya mikroorganisme pembusuk.

4. Pengasapan

Setelah direbus, teripang ditiriskan, lalu diasap untuk mengurangi kadar air sekaligus memberikan rasa dan bau yang spesifik. Pengasapan sebaiknya dilakukan dalam lemari pengasap selama 10 – 20 jam dengan ketebalan asap sedang dan temperatur 60 – 80°C. Biasanya para nelayan menggunakan alat pengasap terbuka, cara ini kurang baik karena sulit dikontrol suhunya juga akan terkena kotoran dari luar serta pemakaian asapnya menjadi tidak efisien. Sebagai bahan bakar dapat digunakan sabut kelapa, serbuk gergaji, kayu bakar, dan bahan lainnya dan sedapat mungkin dihindari pemakaian bahan atau kayu yang bergetah. Menurut Dagoon (1990), mencoba menggunakan serbuk gergaji dan daun jambu biji segar yang ditaburkan di atas bara arang sebagai bahan pengasap akan dapat menghasilkan teripang kering yang berkualitas tinggi. Faktor-faktor penting yang perlu diperhatikan dalam proses pengasapan, antara lain:

- ketebalan asap diusahakan konstan selama pengasapan dan seluruh permukaan teripang harus berkontak langsung dengan asap.
- Suhu pengasapan dipertahankan 60 – 80°C dengan cara mengatur bara api serta ventilasi yang ada pada lemari pengasap (bila menggunakan lemari pengasap). Teripang diusahakan jangan sampai terbakar karena akan merusak penampakan dan mengganggu keluarnya air dari tubuh teripang pada saat pengeringan.
- Diusahakan agar tidak banyak debu atau kotoran yang masuk ke dalam lemari pengasap.
- Bahan bakar harus dibersihkan dan kotoran lain yang dapat mencemari teripang, seperti jamur.

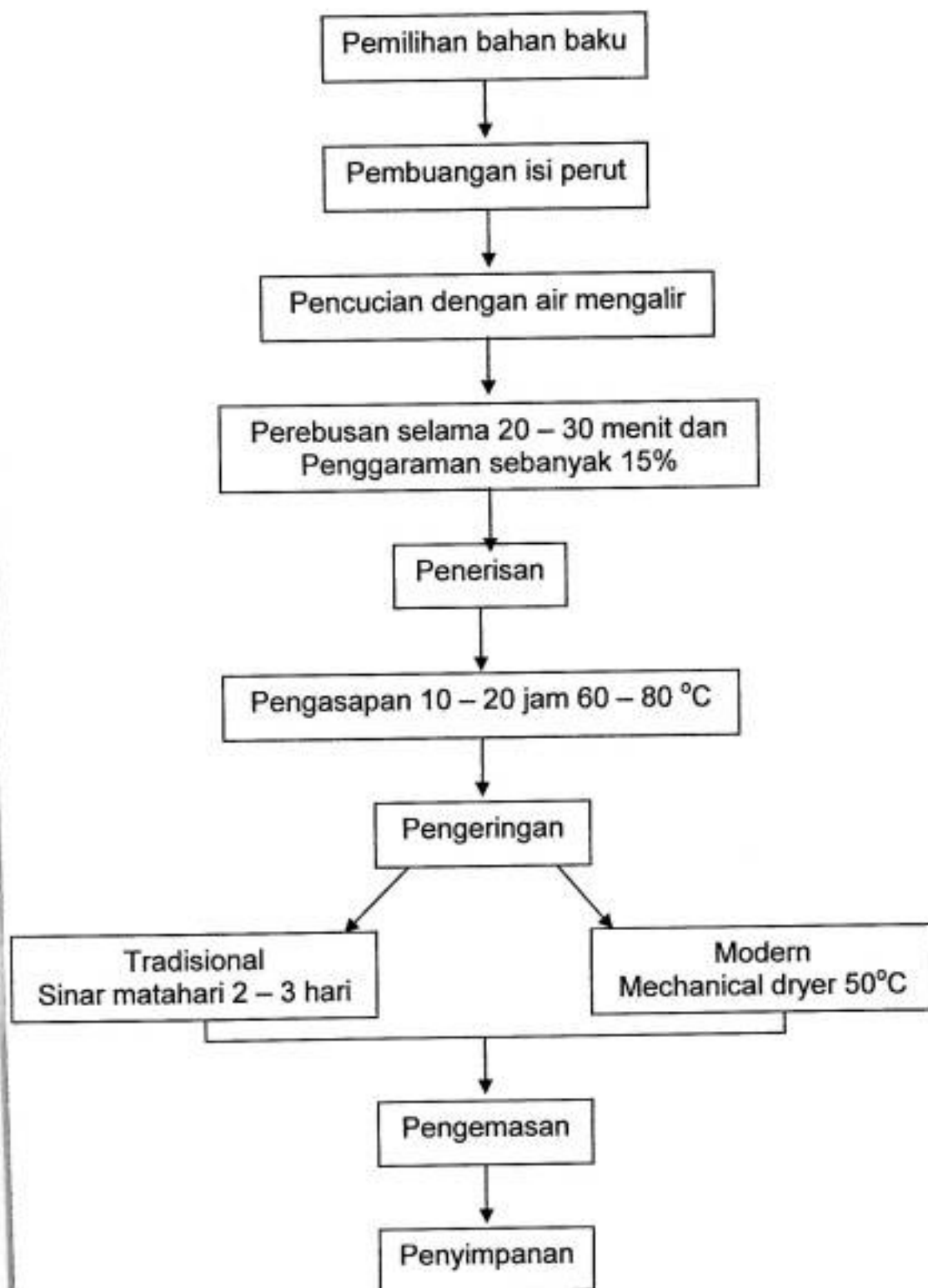
5. Pengeringan

Teripang yang telah diasap masih mempunyai kadar air yang cukup tinggi sehingga perlu pengeringan agar air dapat keluar secara sempurna dan tidak hanya pada permukaan tubuh teripang saja, tetapi juga pada bagian daging di tengahnya. Pada dasarnya air akan keluar dari bagian yang relatif basah ke bagian yang relatif kering secara berangsur-angsur. Tetapi apabila di bagian permukaan sudah terlalu kering terlebih dahulu, maka proses "imbibisi" air tersebut tidak dapat berjalan dengan sempurna karena ada dinding sel yang sudah rusak atau terlalu kering. Pengeringan teripang dapat dilakukan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari selama 2 – 3 hari atau menggunakan

mesin pengering (*mechanical dryer*) pada temperatur 50°C. Hal ini dilakukan Proses pengeringan dilakukan terus-menerus sampai kadar air teripang kurang dari 20%.

6. Pengemasan dan Penyimpanan

Setelah proses pengeringan selesai, teripang kering harus langsung dikemas dalam kantong plastik. Pengemasan ini bertujuan untuk mencegah terjadinya kontaminasi dan penyerapan kembali uap air dari udara karena teripang kering bersifat higroskopis. Kemasan teripang sebaiknya disimpan di tempat yang kering dan mempunyai ventilasi cukup.



Gambar 2. Diagram alur proses pengolahan dan pengeringan teripang (Sumber: Sendih, S., dan Gunawan., 2006. *Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab dari Laut*. AgroMedia Pustaka, Jakarta. Hal 49)

II.2 Uraian Bakteri Uji

II.2.1 *Escherichia coli* (8)

Menurut George Garrity (2000), *Escherichia coli* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryotae
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Sifat dan morfologi:

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang yang lurus dengan ukuran $1,1 - 1,5 \mu\text{m} \times 2,0 - 6,0 \mu\text{m}$ dan bersifat motil dengan flagel peritricus. Bakteri ini memiliki 2 tipe metabolisme, yaitu dengan respirasi dan fermentasi serta fakultatif anaerobik yang tumbuh optimal pada suhu 37°C . Merupakan penghuni flora usus manusia dan hewan berdarah panas yang pada kondisi tidak menguntungkan populasinya dapat meningkat sehingga dapat bersifat patogen. Oksidase negatif dan asetat dapat digunakan sebagai sumber karbon satu-satunya, tetapi sitrat tidak dapat digunakan. Piruvat dihasilkan dengan fermentasi glukosa dan karbohidrat lainnya yang selanjutnya akan diubah menjadi laktat, asetat dan asam format (10).

Responnya terhadap benda asing dengan membentuk antigen O, K dan H sebagai respon terhadap kondisi yang kurang menguntungkan dengan pengembangan kapsul sehingga dapat bersifat virulen dan tidak dapat dinetralisir (11).

II.2.2 *Staphylococcus aureus* (8)

Menurut George Garrity (2000), *Staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryotae
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Sifat dan morfologi:

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat dengan garis tengah $\pm 1 \mu\text{m}$, terdapat dalam bentuk tunggal berpasangan, tetrad atau berkelompok seperti buah anggur. Nama bakteri ini berasal dari bahasa Latin *Staphyle* yang berarti anggur, bersifat gram positif, tidak dapat bergerak, tidak membentuk spora, aerob dan ada fakultatif aerob serta tidak membentuk kapsul. Tumbuh baik pada suhu 37°C . Bakteri ini sangat toleran terhadap garam (NaCl) 10 – 20% dan nitrit sehingga dapat tumbuh pada daging yang diberi perlakuan. Bakteri ini juga bersifat

fermentatif dan proteolitik, tetapi tidak menghasilkan bau yang menyimpang. Pada keadaan aerob, a_w minimum untuk pertumbuhan adalah 0,86, sedangkan pada keadaan anaerob adalah 0,9. Bakteri ini memproduksi pigmen berwarna kuning sampai orange, membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk pertumbuhannya. Kebanyakan *Staphylococcus aureus* bersifat patogen dan memproduksi enterotoksin yang tahan panas dimana ketahanan panasnya melebihi sel vegetatifnya. Bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis pada organ. Di samping itu, kemampuan invasinya rendah, terlibat dalam banyak infeksi kulit misalnya acne, pioderma dan impetigo (12, 13, 14).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan yang tidak tahan terhadap tekanan osmosis yang tinggi dan sensitif pada proses sintesis dinding sel. Peptidoglikan merupakan makromolekul penting untuk kehidupan bakteri, memiliki peranan dalam memelihara ketahanan dinding dan bentuk sel karena memiliki struktur melintang dan berhubungan erat. Biosintesis peptidoglikan ini dapat dihambat prosesnya oleh senyawa antibakteri yang dapat merusak dinding sel bakteri dan menyebabkan hilangnya kekuatan dan kekakuan dinding sel sehingga bakteri mengalami kematian (14, 15, 16).

II.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau bahan yang dapat membunuh bakteri (bakterisida). Mekanisme kerja dari antibakteri antara lain: (17)

1. Menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk melangsungkan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Asam Paraaminobenzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila antimikroba menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu.

2. Menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglukan, yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Antimikroba menghambat reaksi dalam sintesis dinding sel, oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel kuman akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka.

3. Mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Antimikroba dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Antimikroba yang mengubah tegangan permukaan *surface-active agents* dapat merusak

permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba, yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain.

4. Mengganggu sintesis protein sel mikroba

Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan tRNA dan mRNA. Antimikroba berikatan dengan komponen ribosom dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba.

5. Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Asam nukleat merupakan bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel. Untuk pertumbuhan, kebanyakan sel tergantung pada sintesis DNA, sedangkan RNA diperlukan untuk transkripsi dan menentukan informasi sintesis protein dan enzim. Begitu pentingnya asam nukleat bagi sel, maka gangguan sintesis DNA atau RNA dapat memblokir pertumbuhan sel. Antibakteri menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA Dependent RNA Polimerase bakteri sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut.

II.4 Metode Ekstraksi Bahan Alam

II.4.1 Pengertian dan Tujuan Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penyarian zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu simplisia. Proses ekstraksi ini didasarkan atas kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan antara konsentrasi di dalam dan konsentrasi di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara dingin. Ekstraksi secara panas, yaitu dengan metode refluks, soxhletasi dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin, yaitu dengan maserasi dan perkolasi (18, 19).

II.4.2 Ekstraksi secara Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur yang terlindung oleh cahaya. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi

dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok ke dalam sebuah bejana, dituangi dengan 75 bagian penyari dan ditutup, serta dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk, diserikai dan peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya sampai diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari (19).

II.5 Metode Pemisahan

II.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis adalah cara pemisahan dengan adsorpsi pada lapisan tipis adsorben yang dapat digunakan untuk memisahkan berbagai senyawa seperti ion-ion anorganik, kompleks senyawa-senyawa organik dengan anorganik dan senyawa-senyawa organik baik yang terdapat di alam maupun senyawa-senyawa organik sintetis (20).

Pada Kromatografi Lapis Tipis, fase diam berupa lapisan tipis (ketebalan 0,1 – 2 mm) yang terdiri atas bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat dari plat polimer atau logam. Lapisan melekat pada permukaan dengan bantuan pengikat, biasanya dengan kalsium sulfat atau amilum (21).

Ada empat jenis adsorben yang umum dipakai ialah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oksida), Keiselguhr (diatomaceous earth),

dan selulosa. Dari keempat jenis adsorben tersebut, yang paling banyak digunakan ialah silika gel. Ada beberapa jenis silika gel, yaitu: (18)

a. Silika gel G

Silika gel G adalah silika gel yang mengandung 13% kalsium sulfat sebagai perekat.

b. Silika gel H

Perbedaan silika gel G dan silika gel H ialah bahwa silika gel H tidak mengandung perekat kalsium sulfat. Silika gel H digunakan untuk pemisahan yang bersifat spesifik, terutama lipida netral.

c. Silika gel PF

Jenis silika gel ini, memungkinkan senyawa-senyawa organik yang terikat pada plat ini dapat mengadakan fluoresensi. Oleh karena itu, visualisasinya dapat dikerjakan dengan menempatkan plat pada ruangan gelap atau dengan sinar UV yang bergelombang pendek.

Prinsip Kromatografi Lapis Tipis adalah pemisahan secara fisikokimia. Lapisan yang memisahkan yang terdiri dari bahan yang berbutir-butir (fase diam), ditempatkan dalam penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah plat atau lapisan ditaruh di dalam bejana yang ditutup rapat berisi fase gerak, pemisahan terjadi selama pengembangan. Senyawa berwarna terdeteksi (22).

Lapisan tipis sering mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penempakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan. Indikator fluoresensi ialah senyawa yang memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar berpanjang gelombang lain, biasanya sinar UV. Indikator fluoresensi yang paling berguna ialah sulfida anorganik yang memancarkan cahaya jika disinari cahaya pada panjang gelombang 254 nm. Beberapa senyawa organik bersinar atau berfluoresensi sendiri jika disinari pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm dan dapat tampak dengan mudah (21).

II.5.2 Identifikasi dan Harga R_f (Retardation Factor)

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis dikerjakan dengan pereaksi kimia dan reaksi-reaksi warna. Seperti halnya pada kertas harga R_f didefinisikan sebagai berikut:

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik awal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik awal}}$$

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT yang juga mempengaruhi harga R_f:

1. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
2. Sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya

Perbedaan penyerap akan memberikan perbedaan yang besar terhadap harga-harga R_f, meskipun menggunakan fase gerak dan solute yang sama, tetapi hasil akan dapat diulang dengan hasil yang sama, hanya akan diperoleh jika menggunakan penyerap yang sama

juga ukuran partikel tetap dan jika pengikat (kalau ada) dicampur dengan homogen.

3. Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap

Meskipun dalam prakteknya tebal lapisan tidak dapat dilihat pengaruhnya, tetapi perlu diusahakan tebal lapisan yang rata. Ketidakrataan akan menyebabkan aliran pelarut menjadi tidak rata pula dalam daerah yang kecil dari plat.

4. Pelarut dan derajat kemurnian fase gerak

Kemurnian dari pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dalam Kromatografi Lapis Tipis adalah sangat penting dan bila campuran pelarut digunakan maka perbandingan yang dipakai harus betul-betul diperhatikan.

5. Derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan

6. Teknik Percobaan

Arah saat pelarut bergerak di atas plat merupakan metode aliran penaikan yang harus diperhatikan karena cara ini adalah yang paling umum.

7. Jumlah cuplikan yang digunakan

Penetesan cuplikan dalam jumlah yang berlebihan memberikan tendensi penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor dan efek tak kesetimbangan lainnya hingga akan mengakibatkan kesalahan-kesalahan pada harga-harga R_f .

8. Suhu

Pemisahan-pemisahan sebaiknya dikerjakan pada suhu tetap. Hal ini terutama untuk mencegah perubahan-perubahan dalam komponen pelarut yang disebabkan oleh penguapan atau perubahan-perubahan fase.

9. Kesetimbangan

Ternyata bahwa kesetimbangan dalam lapisan tipis lebih penting hingga perlu mengusahakan atmosfer dalam bejana jenuh dengan uap pelarut. Suatu gejala bila atmosfer dalam bejana tidak jenuh dengan uap pelarut, bila digunakan pelarut campuran akan terjadi pengembangan dengan permukaan pelarut yang berbentuk cekung dan fasa bergerak lebih cepat pada bagian tepi-tepi daripada di bagian tengah. Keadaan ini harus dicegah.

II.5.3 Uraian Metode Bioautografi

Menurut Betina (1972), Bioautografi adalah metode pendeteksian untuk penemuan senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan melokalisir aktivitas antimikroba pada kromatogram. Metode ini didasarkan atas efek biologi (antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dan lain-lain) dari substansi yang diteliti. Dibandingkan dengan Kromatografi Kertas, Kromatografi Lapis Tipis mempunyai kekuatan pemisahan yang lebih besar dan lebih cepat dari kedua teknik tersebut. Ciri khas dari prosedur Bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antibakteri dipindahkan dari lapisan kromatografi ke medium agar yang

telah diinokulasi. Zona inhibisi ditampakkan oleh aktivitas dehidrogenase dari pereaksi pendeteksi. Prosedur ini mempunyai beberapa kekurangan dan kemudian diperbaiki dengan melakukan modifikasi tertentu. (23, 24).

Bioautografi dapat dipertimbangkan paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa kompleks dan dapat langsung diisolasi dari komponen yang aktif (25).

Bioautografi dapat dibagi dalam tiga kelompok, yaitu (24, 25, 26):

- a. Bioautografi langsung, dimana mikroorganisme tumbuh langsung di atas lempeng KLT.
- b. Bioautografi kontak, dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasi melalui kontak langsung.
- c. Bioautografi pencelupan, dimana medium agar telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri dituang di atas lempeng KLT.

A. Bioautografi Langsung

Prinsip kerja dari metode ini, yaitu suspensi mikroorganisme dalam medium cair disemprotkan pada permukaan kromatogram yang telah dihilangkan sisa eluen yang menempel pada lempeng. Kemudian diinkubasi pada suhu yang cocok (23).

Kromatogram dikeringkan secara hati-hati dengan hair dryer untuk menghilangkan sisa eluen. Senyawa dideteksi pada UV 254 nm dan 366 nm. Suspensi bakteri sebanyak 5 – 6 ml disebar di atas

lempeng KLT (20 x 20 cm) menggunakan alat pemutar (roller) yang dilapisi dengan kertas kromatografi. Lempeng KLT diinkubasi semalam dalam boks plastik dengan dilapisi kertas, kemudian disemprot dengan 5 ml larutan cair TTC (20 mg/ml) atau INT (5 mg/ml), INTB (5 mg/ml) serta MTT (2,5 mg/ml) dan diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37°C (24).

B. Bioautografi Kontak

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis atau Kromatografi Kertas. Lempeng kromatografi ini ditempatkan di atas permukaan medium Nutrien Agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisa. Setelah 15 – 30 menit, lempeng kromatografi kemudian dipindahkan dari permukaan medium. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari kromatogram ke dalam medium agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan temperatur yang tepat hingga noda yang menghambat mikroorganisme tampak pada permukaan. Zona ini dapat lebih jelas tampak dengan penggunaan indikator aktivitas dehidrogenase (25).

C. Bioautografi Pencelupan

Dalam metode ini, lempeng kromatografi yang telah dielusi diletakkan dalam cawan petri sehingga permukaan tertutupi oleh

medium agar yang berfungsi sebagai "base layer". Setelah medium agar memadat, selanjutnya dituang medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang berfungsi sebagai "seed layer" dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai (Hostettman, 1995).

Beberapa prosedur Bioautografi masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan. Menurut Horman dan Fuchs (1998), Bioautografi Kontak merupakan tipe yang paling sering digunakan. Masalah perbedaan difusi dari senyawa-senyawa kromatogram ke plat agar dipermudah dengan deteksi bioautografi secara langsung, tetapi metode ini membutuhkan peralatan mikrobiologi yang cukup rumit. Sedangkan, Land dan Lyon (1991) menyatakan bioautografi secara langsung untuk aktivitas antibakteri sangat sensitif dan melokalisir senyawa-senyawa yang aktif, tetapi mempunyai kekurangan karena keterbatasan mikroorganisme yang dapat tumbuh secara langsung di atas lapisan kromatografi, ketersebaran bakteri pada lempeng dan memungkinkan terjadi kontaminasi. Sedangkan metode Bioautografi pencelupan merupakan metode yang paling tepat sebab tidak dipengaruhi oleh kemungkinan adanya kontaminasi (25, 26).

II.6 Pengujian secara Mikrobiologis

Walaupun pada umumnya pengujian dilakukan terhadap kebanyakan antibiotika, namun cara ini dapat dipakai untuk bahan-bahan lain yang diduga mempunyai daya hambat atau membunuh pertumbuhan mikroba. Secara umum dapat dilakukan dengan cara metode difusi.

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada medium. Pada metode ini kemampuan zat antimikroba ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba pada medium tersebut. Beberapa modifikasi dari metode ini adalah sebagai berikut (12):

1. Cara difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh (sampel) terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Cara ini menggunakan "plat silinder" yang diletakkan pada medium kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan mangkuk pipih

Prinsip dan cara kerja dari cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat berupa "cup plate", yaitu lubang yang dibuat langsung pada medium agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Perbedaan cara ini dengan cara-cara tersebut di atas, yaitu pada cara ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7 – 1 cm yang nantinya akan dicelup ke dalam larutan contoh (sampel) dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh pada medium. Pada metode ini kemampuan zat antimikroba ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan dari mikroba pada medium tersebut. Beberapa modifikasi dari metode ini adalah sebagai berikut (12):

1. Cara difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh (sampel) terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Cara ini menggunakan "plat silinder" yang diletakkan pada medium kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalamnya.

2. Cara difusi dengan mangkuk pipih

Prinsip dan cara kerja dari cara ini sama dengan plat silinder. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat berupa "cup plate", yaitu lubang yang dibuat langsung pada medium agarnya.

3. Cara difusi dengan kertas saring

Perbedaan cara ini dengan cara-cara tersebut di atas, yaitu pada cara ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk serta ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7 – 1 cm yang nantinya akan dicelup ke dalam larutan contoh (sampel) dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.

4. Cara difusi dengan cara Kirby – Bauer

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan cara difusi dengan kertas saring. Perbedaannya adalah disini menggunakan kertas saring dan cawan petri yang berukuran 150 x 15 ml sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai variasi konsentrasi larutan contoh.

5. Cara difusi dengan cara agar berlapis

Cara ini merupakan modifikasi cara Kirby – Bauer. Perbedaannya, yaitu pada cara ini menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama tidak mengandung bakteri (base layer), sedangkan pada lapisan keduanya mengandung bakteri yang dicampur pada medium agar (seed layer).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah bejana maserasi, Cawan petri (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), Rotavapor, Labu tentukur, Gelas piala (Pyrex), seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Cuvet (Pyrex), Gelas ukur (Pyrex), Inkubator aerob (Heraeus), tabung reaksi (Pyrex), Botol pengenceran, Oven (Heraeus), Otoklaf, Timbangan analitik (Ohaus), Timbangan kasar (Ohaus), Jangka sorong, Laminar Air Flow (Enviro), Lampu spiritus, sengkeli ose, Sentrifuge, dan mesin penyerbuk.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*); biakan murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (koleksi Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin); NaCl fisiologis 0,9%; pelarut organik heksana, etil asetat, kloroform, dan metanol; air suling steril; Alkohol 70%; aluminium foil; kapas steril; Medium Nutrien Agar (Pronadisa); Medium Mueller Hillton Agar (Pronadisa); dan kertas cakram.

III.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Pusat Penelitian Oseanografi – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Untuk memudahkan identifikasi, dilakukan langkah-langkah penanganan sebagai berikut:

1. Label

- Label bisa dari kertas kalkir, ditulis pakai pensil atau kertas label khusus yang bisa direndam dalam alkohol.
- Berisi nomor (atau kode) spesimen, lokasi pengambilan (jika mungkin dengan posisi geografis/GPS), tanggal pengambilan dan nama yang mengoleksi (perorangan atau nama tim). Jika mungkin, catat sedikit gambaran tempat/habitat dimana sampel ditemukan.

2. Pengawetan (fiksasi) sampel

Dalam kondisi relaksasi, masukkan sampel ke alkohol 96%, biarkan \pm 1 hari. Pada hari berikutnya, ganti dengan alkohol 70%. Label selalu menyertai spesimen. Untuk membantu relaksasi, bisa dipakai sedikit $MgCl_2$ yang dilarutkan dalam air laut. Lamanya narkose dapat dideteksi dengan memeriksa hewan bersangkutan. Biasanya tentakelnya menjulur keluar. Jika tubuhnya tidak menjulur atau mengkerut saat disentuh, maka hewan tersebut siap difiksasi.

3. Penyimpanan sampel

Sampel timun laut dan labelnya biasanya disimpan di dalam alkohol 70%, di dalam botol kaca dengan penutup yang rapat. Jika alkohol terlihat keruh, maka alkohol sebaiknya diganti.

4. Pengiriman sampel awetan

Jika sampel akan dikirim, dimasukkan sampel (beserta labelnya) tanpa alkohol ke dalam kantong plastik (satu spesimen-satu plastik). Sebelum plastik ditutup rapat, beri beberapa lembar tissue yang

dibasahi alkohol. Sampel-sampel dalam plastik ini kemudian dimasukkan ke dalam container kedap udara.

5. Dokumentasi – foto

Untuk memudahkan identifikasi, spesimen segar di foto dalam kondisi terendam di air laut supaya papillanya jelas terlihat, dan tubuhnya dalam posisi rileks. Foto diambil dari bagian dorsal dan ventral (antara lain untuk melihat susunan tube feetnya), juga kedua ujung tubuhnya (untuk melihat apakah posisi anus dan mulutnya di ventral atau terminal). Foto di habitat aslinya akan membantu identifikasi.

III.3 Metode Kerja

III.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah Teripang jenis *Bohadschia marmorata* dalam bentuk kering yang diambil di daerah Werba – Distrik Fak-Fak Barat Kabupaten Fak-Fak, Irian Barat (Lampiran 1).

III.3.2 Pengolahan Sampel

Sampel Teripang jenis *Bohadschia marmorata* dipotong kecil-kecil kemudian diserbukkan dengan ukuran 0,06 – 0,25 cm yang setara dengan derajat halus serbuk 4/18 sebelum dilakukan ekstraksi.

III.3.3 Ekstraksi Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*)

Sampel Teripang jenis *Bohadschia marmorata* sebanyak 1 kg diserbukkan kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu dituangi dengan metanol sebanyak 1000 ml hingga terendam seluruhnya,

setelah 24 jam cairan penyaringnya diganti dengan metanol yang baru. Pengerjaan ini dilakukan sebanyak 3 kali dengan jumlah penyari yang sama. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penyaringnya dengan menggunakan rotavapor kemudian dilanjutkan di atas penangas air dan diangin-anginkan sampai diperoleh ekstrak metanol kering. Selanjutnya ekstrak metanol kering ditambahkan metanol p.a dan disentrifus. Supernatannya diambil, sedangkan endapannya yang berupa garam dibuang. Pengerjaan ini dilakukan beberapa kali hingga supernatan yang diperoleh sudah jernih. Kemudian diuapkan hingga pelarutnya habis dan ditimbang. Selanjutnya ekstrak metanol ini diuji aktivitas antibakterinya.

III.3.4 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*)

Dibuat suspensi ekstrak *Bohadschia marmorata* berdasarkan deret hitung dengan konsentrasi 30%, 50%, dan 70% b/v. Konsentrasi 30% dibuat dengan cara menimbang ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) sebanyak 30 gram lalu ditambahkan air suling dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml dalam labu ukur sambil sesekali diaduk. Untuk membuat ekstrak *Bohadschia marmorata* 50%, dan 70% dibuat dengan menimbang 50 gram, 70 gram dan digunakan cara yang sama seperti pada pembuatan konsentrasi 30%. Selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya.

III.3.5 Penyiapan Alat dan Bahan

III.3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan detergen sintetis, wadah dengan mulut lebar dibersihkan dengan merendamnya dalam larutan detergen selama 5 – 30 menit diikuti dengan pembilasan pertamanya dengan air bersih dan terakhir dengan air suling. Alat-alat dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka, setelah kering kemudian dibungkus dengan kertas perkamen. Tabung reaksi dan Erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat dari gelas disterilkan di oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat suntik dan alat-alat plastik (tidak tahan terhadap pemanasan tinggi) disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 2 atm. Jarum ose disterilkan dengan pemanasan langsung hingga memijar selama 30 detik.

III.3.5.2 Pembuatan Medium

Medium yang digunakan, yaitu:

1. Medium Nutrien Agar (Lampiran 2)

Bahan-bahan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan air suling steril kemudian dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan larut. Air yang hilang selama pemanasan dicukupkan volumenya dengan air suling steril hingga volumenya mencapai 1000 ml. Setelah itu, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

2. Medium Mueller Hillton Agar (Lampiran 2)

Bahan-bahan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan air suling steril kemudian dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan larut. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling steril hingga volumenya mencapai 1000 ml. Setelah itu, medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.3.6 Penyiapan Mikroorganisme Uji

III.3.6.1 Peremajaan Mikroorganisme Uji

Mikroorganisme uji berupa bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang berasal dari biakan murni, masing-masing diambil 1 ose lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium Nutrien Agar miring. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

III.3.6.2 Pembuatan Suspensi Mikroorganisme Uji

Mikroorganisme uji yang telah diremajakan disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9% steril. Selanjutnya dilakukan pengenceran suspensi mikroba sampai diperoleh transmittan 25% terhadap blanko larutan NaCl 0,9% steril pada panjang gelombang 580 nm dengan menggunakan kuvet berdiameter 13 mm. Cara ini dilakukan untuk masing-masing bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

pipa kapiler. Dibiarkan beberapa saat hingga kering dan dimasukkan ke dalam chamber yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi. Lempeng dibiarkan terelusi hingga 0,5 cm dari tepi atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari chamber dan diangin-anginkan hingga cairan pengelusnya menguap kemudian diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Noda-noda yang memberikan fluoresensi diberi tanda pada lempeng.

III.3.7.3 Pengujian secara KLT – Bioautografi

Dalam cawan petri steril dituang medium MHA secara aseptis sebanyak 15 ml dan dibiarkan memadat sebagai lapisan dasar (base layer). Setelah itu, medium MHA sebanyak 10 ml yang sudah dicampur dengan 1 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan, dituangkan di atas lapisan dasar (seed layer). Setelah medium agak memadat, lempeng KLT yang sudah dielusi diletakkan di atas permukaan agar. Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Diamati zona hambatan yang terbentuk.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Setelah dilakukan ekstraksi secara maserasi terhadap Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*), maka penentuan daerah hambatan dan senyawa antibakteri secara KLT–Bioautografi diperoleh hasil sebagai berikut:

Hasil pengujian daya hambat ekstrak metanol Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) dapat dilihat dari diameter hambatan pertumbuhan terhadap bakteri uji seperti pada tabel 2 berikut ini:

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Hambatan Ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) Secara Maserasi Terhadap Bakteri Uji

Bakteri	Diameter zona hambatan (mm)			
	Konsentrasi ekstrak			
	30%	50 %	70 %	Kontrol
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,15	9,62	11,71	0
<i>Escherichia coli</i>	6,73	8,15	10,35	0

IV.2 Pembahasan

Ekstraksi teripang dilakukan secara maserasi (ekstraksi secara dingin) dengan menggunakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar dapat diekstraksi. Pemilihan metode ini didasarkan pada tekstur Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) yang lunak dan mengandung gizi yang lengkap (protein lebih dari 80%). Oleh karena itu, digunakan metode maserasi

karena tidak menggunakan pemanasan sehingga senyawa aktif yang terdapat dalam Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) kemungkinan kecil tidak terurai atau rusak.

Hasil pengukuran diameter zona hambatan memperlihatkan bahwa ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) dengan menggunakan konsentrasi 30%, 50% dan 70% terhadap kedua jenis bakteri yang digunakan dalam masa inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (Gambar 3) yang memperlihatkan daerah bening disekeliling kertas cakram. Terbentuknya daerah bening disebabkan karena ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) yang meresap ke dalam kertas cakram berdifusi di sekitar kertas cakram sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri disekitarnya menjadi terhambat. Zat antibakteri yang dikandung dalam ekstrak, menghambat pertumbuhan bakteri dan mengakibatkan daerah di sekitar kertas menjadi bening.

Diameter zona hambatan yang terbentuk pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* berbeda-beda. Ini menunjukkan bahwa sensitifitas kedua jenis bakteri uji ini berbeda terhadap potensi suatu zat antibakteri. Demikian pula sebaliknya, antibakteri mempunyai sifat menghambat dan membunuh bakteri yang berbeda pula. Perbedaan sensitifitas ini disebabkan karena adanya perbedaan sifat fisiologi dan kimia tiap jenis bakteri sehingga dihasilkan daerah hambatan yang berbeda. Suatu jenis

bakteri akan membentuk resistensi dalam dirinya yang merupakan mekanisme alamiah untuk mempertahankan hidupnya (14).

Ini mengindikasikan bahan aktif yang berasal dari ekstrak metanol Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) terdifusi lebih sedikit ke dalam sel bakteri Gram negatif dibandingkan terhadap bakteri Gram positif. Hal ini diduga karena bakteri Gram negatif memiliki membran luar (*outer membrane*) yang melindungi bakteri dari zat beracun. Membran luar memiliki pori-pori yang sempit menambah perlindungan bagi bakteri Gram negatif. Membran luar pada bakteri Gram negatif bersifat menghalangi antibiotik, pewarna, dan detergen masuk ke bagian dalam sel bakteri yang sensitif. Di samping itu, bakteri Gram negatif memiliki saluran (*porin channel*) yang sangat sempit hanya $0,7 \times 1$ nm pada *Escherichia coli*, sedangkan senyawa antibakteri yang larut dalam air memiliki ukuran lebih dari 700 Dalton sehingga senyawa antibakteri tidak bisa masuk pada membran luar bakteri Gram negatif (27).

Uji daya hambat pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula penghambatannya terhadap bakteri uji. Hal ini disebabkan karena makin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan maka makin besar pula senyawa aktif yang berefek antibakteri yang terdapat didalamnya. Menurut Cappucino dan Sherman (1978), peningkatan konsentrasi umumnya diikuti dengan peningkatan diameter daerah hambatan dan konsentrasi bahan kimia akan mempengaruhi

mikroorganisme, dimana konsentrasi tertinggi akan menyebabkan lebih banyak kematian mikroorganisme.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, daerah hambatan dari ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) terhadap pertumbuhan bakteri uji pada masa inkubasi 2 x 24 jam telah ditumbuhi kembali oleh bakteri uji. Wattimena (1991) menyatakan bahwa bila daerah hambatan yang terjadi tidak lagi bening setelah 48 jam atau daerah bening ditumbuhi bakteri kembali setelah inkubasi 48 jam, berarti senyawa aktif yang bersifat antibakteri yang terkandung dalam Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) bersifat bakteriostatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan, tetapi tidak membunuh bakteri tersebut.

Setelah dilakukan pengukuran diameter hambatan, ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) yang memiliki daya hambat terbesar, yaitu pada konsentrasi 70% diuji secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk memisahkan komponen-komponen kimia yang terkandung didalamnya. Hasil uji KLT diperoleh hasil seperti pada tabel 4 (lampiran 5).

Hasil pemisahan secara KLT dengan menggunakan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) menunjukkan 2 noda, sedangkan hasil pemisahan dengan cairan pengelusi heksana : etil asetat (7 : 1) juga menunjukkan 2 noda. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4 (lampiran 5).

Penggunaan kedua jenis eluen ini disebabkan karena senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak Teripang Cempedak

(*Bohadschia marmorata*) memiliki sifat dan jenis yang berbeda, terutama senyawa yang berpotensi menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Adanya noda yang dihasilkan pada pemisahan ini disebabkan oleh perbedaan daya serap adsorben terhadap komponen sehingga noda akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda pula.

Hasil pemisahan senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilanjutkan dengan pengujian secara Bioautografi menggunakan medium agar berlapis untuk mengetahui senyawa yang aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pengujian senyawa kimia secara KLT – Bioautografi diperoleh hasil seperti pada tabel 5 (lampiran 6).

Pada pengujian senyawa antibakteri dengan menggunakan metode KLT – Bioautografi, dipilih metode Bioautografi kontak karena lebih mudah, sederhana dan paling sering digunakan. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Hamburger dan Cordell (1987). Dengan Bioautografi kontak diperoleh proses perpindahan senyawa aktif ke dalam medium agar yang dapat menghasilkan zona hambatan yang lebih besar dengan nilai R_f yang sama. Dibandingkan dengan metode Bioautografi langsung, dimana penyebaran bakteri pada lempeng sering tidak merata dan kemungkinan terjadinya kontaminasi lebih besar. Begitu pula dengan Bioautografi pencelupan, dimana zona hambatannya sukar untuk diamati. Maka dengan menggunakan metode Bioautografi kontak, ketersebaran bakteri dapat dijamin serta zona hambatannya dapat langsung diamati pada medium agar.

Senyawa antibakteri yang teruji dengan metode KLT – Bioautografi dari ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) menunjukkan bahwa pada cairan pengelusi kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) dari 2 noda dengan penampak noda sinar UV 366 nm memperlihatkan 1 noda yang aktif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu noda dengan Rf 0,68 dan *Escherichia coli* dengan Rf 0,89 (Lampiran 7). Sedangkan pada cairan pengelusi heksana : etil asetat (7 : 1) juga diperoleh 1 noda yang aktif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu noda dengan Rf 0,57 dan *Escherichia coli* dengan nilai Rf 0,81 (Lampiran 8).

Dari hasil pengujian tersebut memperlihatkan bahwa ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Konsentrasi ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) yang memberikan diameter hambatan terbesar dari beberapa konsentrasi yang digunakan adalah 70%. Heksana dan etil asetat merupakan zat pengelusi dengan daya penyerapan dalam KLT yang kekuatan penyerapannya akan menurun dengan penurunan polaritas dari zat yang diserap sehingga digolongkan sebagai zat pengelusi yang bersifat kurang polar (= nonpolar). Sedangkan, kloroform dan metanol merupakan zat pengelusi dengan kekuatan penyerapan yang naik dengan kenaikan polaritas dari zat yang diserap sehingga dapat digolongkan sebagai zat pengelusi yang bersifat polar (Sastrohamidjojo, 1991).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji dan bersifat bakteristatik.
2. Hasil pengujian secara KLT – Bioautografi dengan cairan pengelusi kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) menunjukkan 1 noda dengan nilai Rf 0,68 yang aktif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan 1 noda dengan nilai Rf 0,89 yang aktif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.
3. Hasil pengujian secara KLT – Bioautografi dengan cairan pengelusi heksana : etil asetat (7 : 1) menunjukkan 1 noda dengan nilai Rf 0,81 yang aktif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan 1 noda dengan nilai Rf 0,57 yang aktif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

V.2 Saran

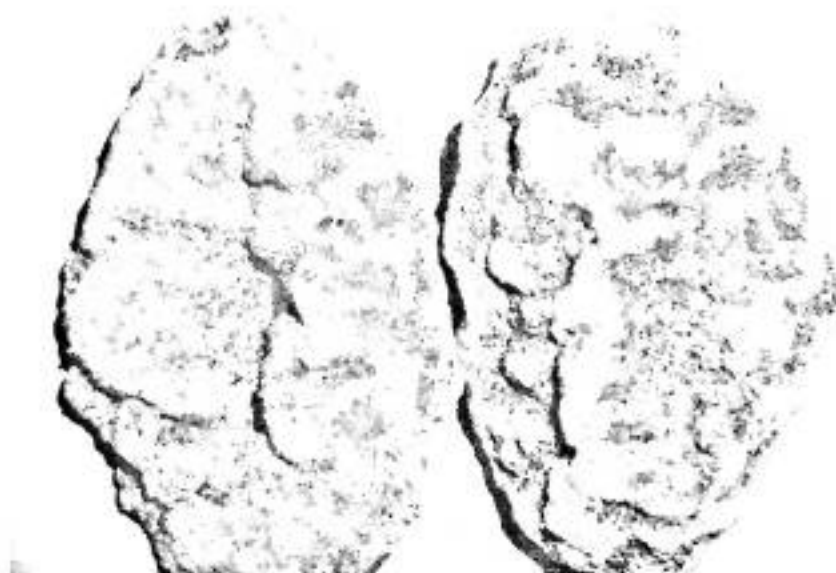
Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi jenis senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Edrada, R., A., Wray, V., Handayani, D., Schupp, P., Balbin-Oliveros, M., and Proksch, P., 2000, Structure–Activity Relationship of Bioactive Metabolites from Some Indopasific Marine Invertebrates, in *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta-urRahman (Ed), *Elsevier Science*.
2. Proksch, R., Ebel, R., Edrada, R., Schupp, P., Lin, W., H., Sudarsono, Wray, V., and Steube, K., 2003, Detection of Pharmacologically Active Natural Products Using Ecology. Select Examples from Indopasific Marine Invertebrates and Sponge-Derived Fungi, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 75.
3. Martoyo, J., Nugroho, A., dan Tjahjo, W., 2006. *Budidaya Teripang*. Penebar Swadaya. Jakarta.
4. Purwati, P., 2005. *Teripang Indonesia: Komposisi, Jenis dan Sejarah Perikanan*. Oseana. Vol. 30. Jakarta.
5. Sendih, S., dan Gunawan. 2006. *Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab dari Laut*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
6. Ridzwan, P., 2005. *Khasiat Teripang*. <http://www.haisom.com>. Diakses tanggal 17 Januari 2009.
7. Purwati, P., 2008., *Tips Penanganan Sampel Timun Laut*. Pradina purwati@yahoo.co.id. Puslit Oseanografi – LIPI. Jakarta.
8. Gottlieb, D., 1977., *Bergey Manual of Determinative Bacteriology*, 8th edition. The Williams and Wikins Co., Baltimore. London.
9. Warta Pasar Ikan. 2003. *Penanganan dan Pengolahan Teripang*. Ditjen PK2P. Jakarta.
10. Krieg, N., R., 1984, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol.1, Baltimore, London.
11. Supardi, I., 1999, *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*, Alumni. Bandung.
12. Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, Salemba Medika, Jakarta.
13. Fardiaz, S., 1992, *Mikrobiologi Pangan*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

14. Pelczar, M., J., 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jilid I, UI-Press, Jakarta.
15. Siswandono dan Bambang, S., 1995, *Kimia Medisinal*, Airlangga University Press, Surabaya.
16. Lay, B., Hastowo, S., 1990, *Mikrobiologi*, Rajawali Press, Jakarta.
17. Nurwantoro, Djarijah, S., A., 1997, *Mikrobiologi Pangan Hewani – Nabati*, Kanisius, Yogyakarta.
18. Harborner, J., B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan*, Ed II, Penerbit ITB. Bandung.
19. Dirjen POM. 1986. *Sediaan Galenik*, Ed II. Depkes RI. Bhakti Husada. Jakarta.
20. Adnan, M., 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan*, Ed I, Cetakan I. Penerbit Andi. Yogyakarta.
21. Gritter, R., J., Bobbitts, J., M., Schwarting, A., E., 1991. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit ITB. Bandung.
22. Stahl, E., 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Penerbit ITB. Bandung.
23. Hostettmann, K., M., dan Marston, A., 1985. *Cara Kromatografi Preparatif, Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*. Penerbit ITB. Bandung.
24. Betina, W., 1972. *Pharmaceutical Application of Thin Layer and Paper Chromatography*. Amsterdam.
25. Rios, J., L., Recio, M., C., dan Villar, A., 1998. *Screening Methods for Natural Products with Antimicrobial Activity*, Journal of Echinopharmacology, No. 23, Departemen Farmacology, Facultad de Farmacia, Universidad Complutenic de Madrid, Madrid.
26. Rahalison, L., Hostettman, K., 1991, *A Bioautographic Agar Overlay Methods for the Detection of Antifungal Compounds from Higher Plants, Phytochemical analysis*, Vol. 2, University de Lausanne, Switzerland.
27. Anggadiredja, JT. 2004. *Diversity of Antibacterial Substances from Selected Indonesian Seaweeds* (Desertasi). Jakarta: University of Indonesia, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Graduate Study Program Biologi.

Lampiran 1

Bohadschia marmorata segar*Bohadschia marmorata* kering

**Lampiran 2****Komposisi Media****1. Medium Nutrien Agar (NA)**

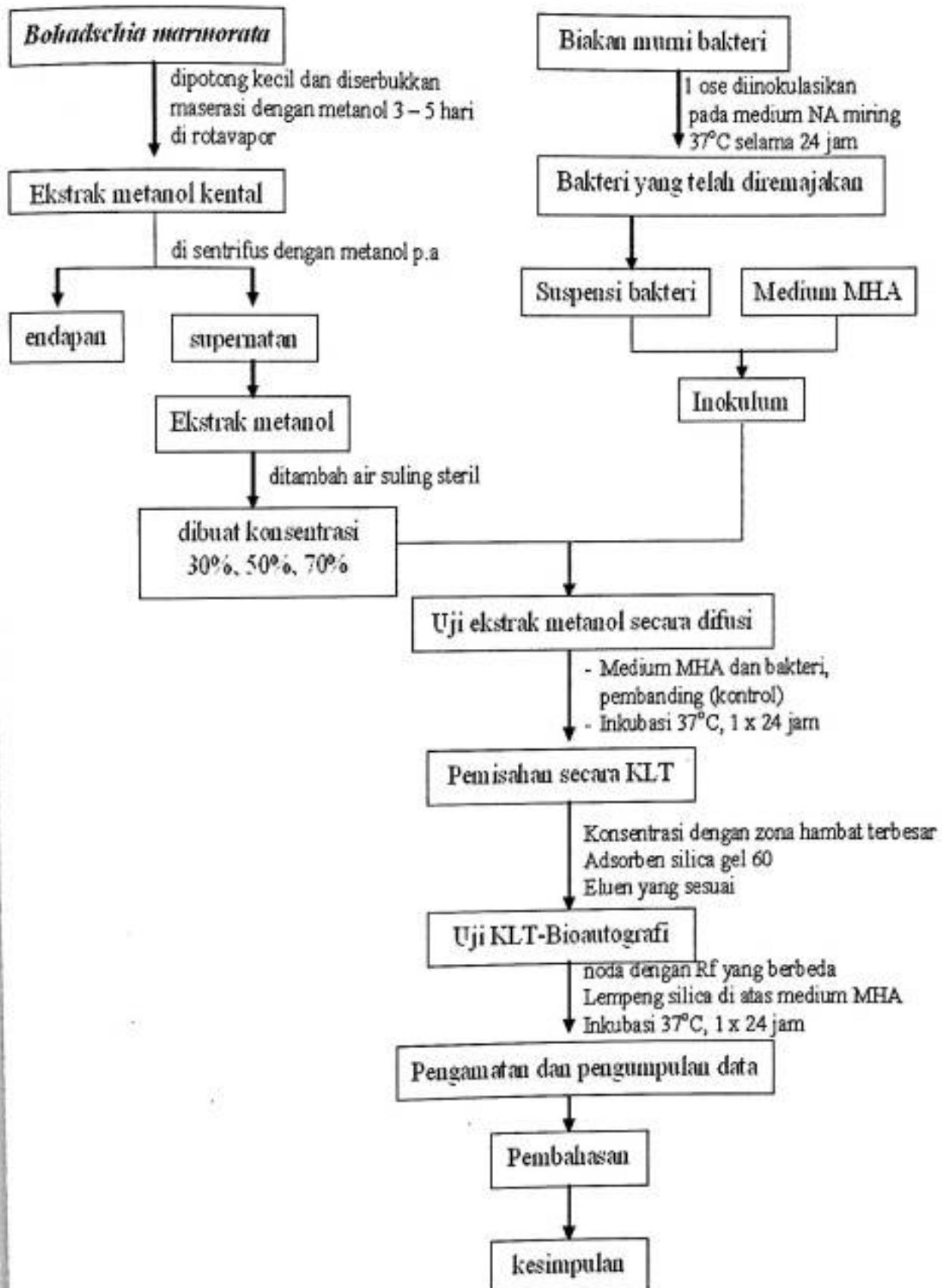
Ekstrak daging	3 gram
Pepton	5 gram
Agar	15 gram
Air suling	1000 ml
pH	$6,8 \pm 0,2$

2. Medium Mueller Hinton Agar (MHA)

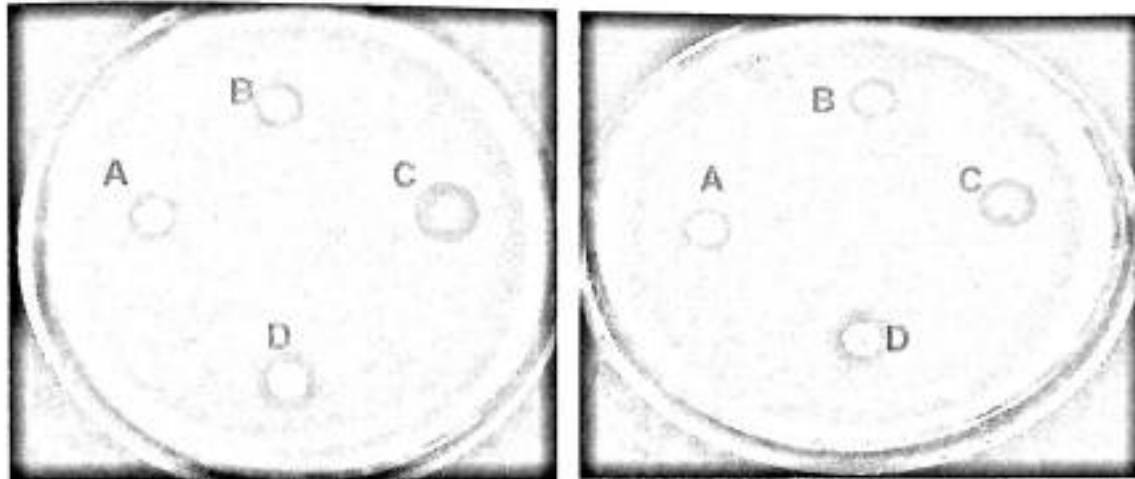
Infus daging	5 gram
Casein hidrosilat	17,5 gram
Pati	1,5 gram
Agar	13,0 gram
Air suling	1000 ml
pH	$7,4 \pm 0,2$

Lampiran 3

SKEMA KERJA



Lampiran 4

*Staphylococcus aureus**Escherichia coli*

Gambar 3. Zona hambatan ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) terhadap bakteri uji dengan masa inkubasi 1 x 24 jam

Keterangan:

A : Konsentrasi 30 %

B : Konsentrasi 50 %

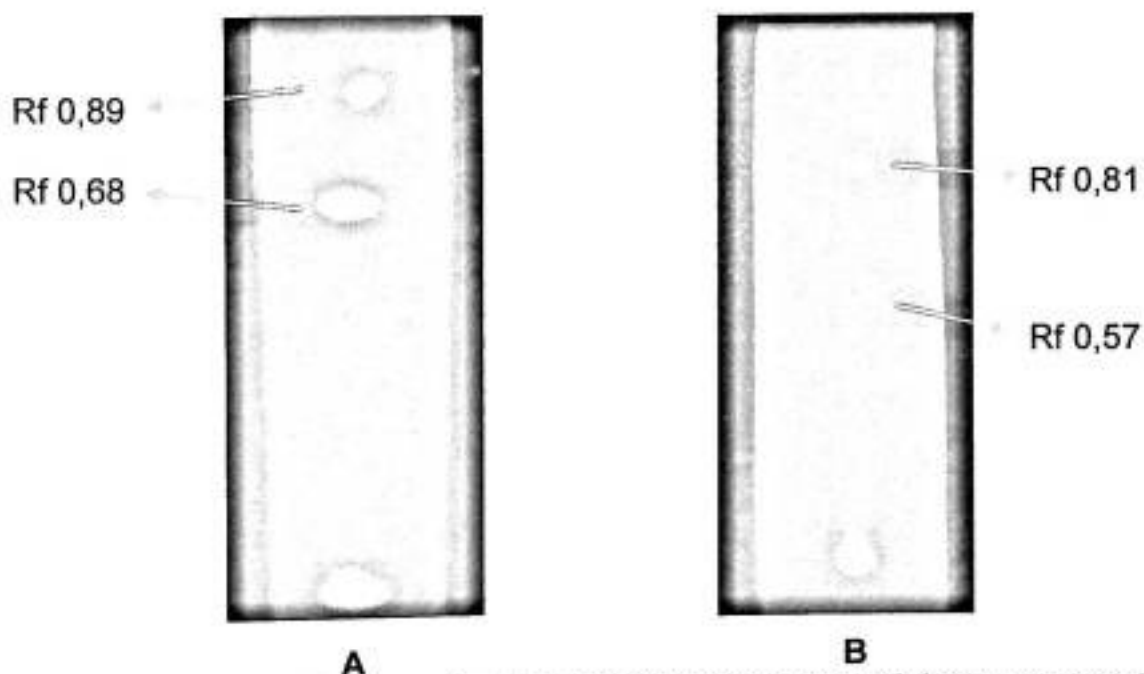
C : Konsentrasi 70 %

D : Kontrol

Lampiran 5

Tabel 3. Hasil Pemisahan Senyawa kimia Ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sampel	Eluen Kloroform : Metanol : Air (10 : 3 : 0,5)		Eluen Heksana : Etil asetat (7 : 1)	
	Jumlah noda	Nilai Rf	Jumlah noda	Nilai Rf
Teripang Cempedak (<i>Bohadschia marmorata</i>)	2	0,89	2	0,81
		0,68		

Gambar 4. KLT ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) dengan penampakan noda sinar UV 366 nm

Keterangan: A : Cairan pengelusi kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5)

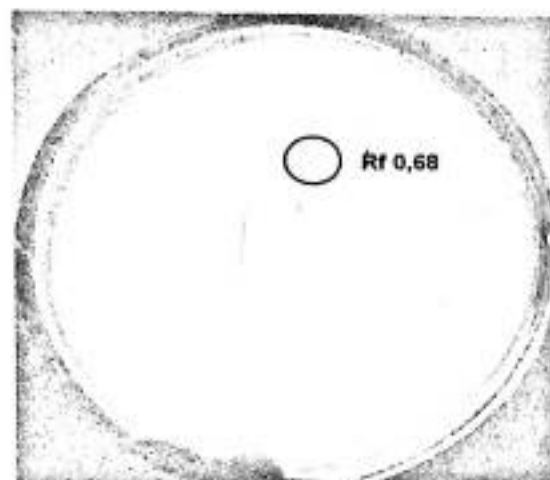
B : Cairan pengelusi heksana : etil asetat (7 : 1)

Lampiran 6

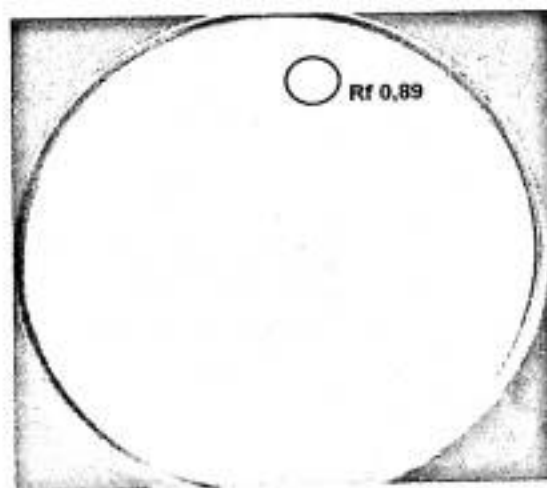
Tabel 4. Hasil pengujian senyawa kimia ekstrak Teripang Cempedak (*Bohadschia marmorata*) secara KLT – Bioautografi

Bakteri	Eluen kloroform : metanol : air			Eluen heksana : etil asetat		
	Jumlah noda	Noda aktif	Nilai Rf	Jumlah noda	Noda aktif	Nilai Rf
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	1	0,68	2	1	0,57
<i>Escherichia coli</i>	2	1	0,89	2	1	0,81

Lampiran 7

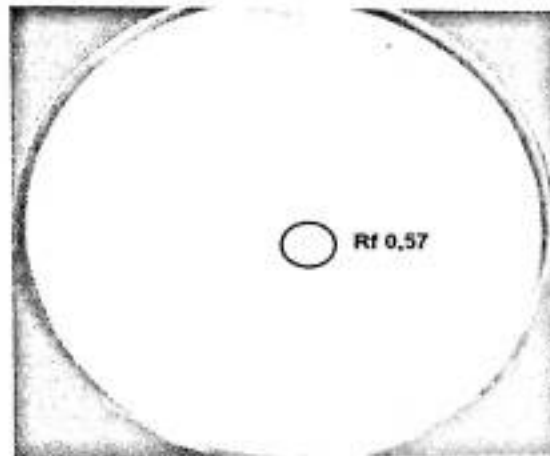


Gambar 5. Bioautogram dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) terhadap *Staphylococcus aureus*.

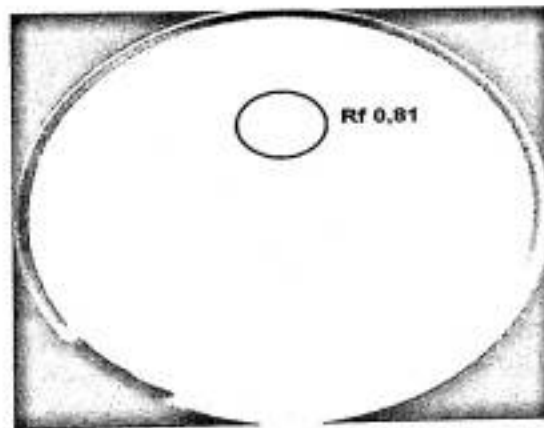


Gambar 6. Bioautogram dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : air (10 : 3 : 0,5) terhadap *Escherichia coli*.

Lampiran 8



Gambar 7. Bioautogram dengan menggunakan eluen heksana : etil asetat (7 : 1) terhadap *Staphylococcus aureus*.



Gambar 8. Bioautogram dengan menggunakan eluen heksana : etil asetat (7 : 1) terhadap *Escherichia coli*.