

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR TERIPANG PASIR (*Holothuria
scabra*) DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus*
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :
**AYU WINNA RAMADHANI
NIM. 115080501111003**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR TERIPANG PASIR (*Holothuria
scabra*) DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus*
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
AYU WINNA RAMADHANI
NIM. 115080501111003**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KASAR TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*) DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* SECARA *IN VITRO*

Oleh :
AYU WINNA RAMADHANI
NIM. 115080501111003

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 7 Juli 2015
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I **MENYETUJUI,**
DOSEN PEMBIMBING I

Ir. Heny Suprastyani, MS.
NIP. 19620904 198701 2 001

Dr. Ir. Maftuch, M.Si.
NIP. 19660825 199203 1 001

Tanggal :

Tanggal :

DOSEN PENGUJI II **DOSEN PEMBIMBING II**

Ir. Ellana Sanoesi, MP.
NIP. 19630924 199803 2 002

Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc
NIP. 19621014 198701 1 001

Tanggal :

Tanggal :

MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.
NIP. 19622825 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa pada skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 7 Juli 2015

Mahasiswa,

AYU WINNA RAMADHANI



RINGKASAN

AYU WINNA RAMADHANI. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Secara *In Vitro*. **Dr. Ir. MAFTUCH, M.Si., dan Dr. Ir. M. FADJAR, M.Sc.**

Berdasarkan pada data FAO tahun 2008, udang windu (*Penaeus monodon*) merupakan salah satu komoditas budidaya unggulan di Asia. Melihat besarnya potensi budidaya udang windu, para petambak memaksimalkan produksinya melalui sistem budidaya intensif. Namun, kendala yang dihadapi para petani pun semakin kompleks diantaranya masalah serangan penyakit, pertumbuhan udang yang lambat, dan menurunnya kualitas lingkungan budidaya (Widanarni *et al.* 2102). Penyakit udang yang mudah timbul umumnya disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. (Ruangpan dan Kitao, 1991 dalam Kharisma dan Manan, 2012). *V. parahaemolyticus* merupakan agen penyebab *septicemia* pada udang saat periode *larva* dan *post larva*. Menurut Irianto (2005) dalam Indrarini *et al.* (2014), menyatakan bahwa *septicemia* menyebabkan efek toksin yang dapat menyebar ke seluruh tubuh melalui sistem transportasi dalam tubuh, sehingga toksin bisa ditemukan jauh dari tempat infeksi. Penanggulangan penyakit *vibriosis* yang biasa dilakukan para pembudidaya udang adalah menggunakan antibiotik. Penggunaan kombinasi antibiotik yang tidak terkontrol umumnya dapat menyebabkan resistensi pada organisme yang dibudidaya (Pratama *et al.* 2014). Sehingga diperlukan pengembangan antibiotik yang berasal dari sumberdaya alam laut yang ramah lingkungan. Teripang (*Holothuria* sp.) merupakan salah satu biota laut Indonesia yang berpotensi sebagai sumber daya alam penyedia bahan baku industri farmasi (Roihanah *et al.* 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, FPIK UB bulan April 2015 dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilakukan dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan yaitu 250 ppt (perlakuan A), 275 ppt (perlakuan B), 300 ppt (perlakuan C), dan 325 (perlakuan D). parameter utama dalam penelitian ini adalah mengukur diameter zona bening yang dihasilkan pada tiap perlakuan. Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah lama waktu perendaman kertas cakram.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah pada perlakuan A, ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) telah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* dengan rata-rata diameter zona bening sebesar 2.93 mm. Perlakuan B diperoleh rata-rata diameter zona bening sebesar 3.48 mm, perlakuan C diperoleh rata-rata diameter zona bening sebesar 4.43 mm, dan perlakuan D diperoleh rata-rata diameter zona bening sebesar 6.35 mm. Hasil tersebut setelah dilakukan uji statistik berbeda sangat nyata dan semakin tinggi dosis yang digunakan memberikan pengaruh terhadap diameter zona bening yang dihasilkan. Grafik yang dihasilkan berupa grafik linier dengan persamaan $y = 4.903 + 0.032x$ dengan tingkat kepercayaan $R^2 = 0,95$. Ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) merupakan antibakteri yang bersifat bakteriostatik karena hanya bersifat menghambat pertumbuhan tanpa membunuh bakteri. Dosis ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) sebesar 250 ppt sudah menunjukkan keefektivitasan dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* dengan hasil rata-rata zona hambat sebesar 2.93 mm.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, berkat rahmat-Nya penulisan Laporan Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Penulisan Laporan Skripsi yang berjudul **Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Dalam Menghambat Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Secara *In Vitro*** dimaksudkan sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Penulis sangat menyadari atas kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki, untuk itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran dari pembaca agar lebih menyempurnakan penulisan Skripsi ini sehingga dapat menyajikan informasi yang bermanfaat bagi pembaca.

Malang, 7 Juli 2015

Ayu Winna Ramadhani

UCAPAN TERIMA KASIH

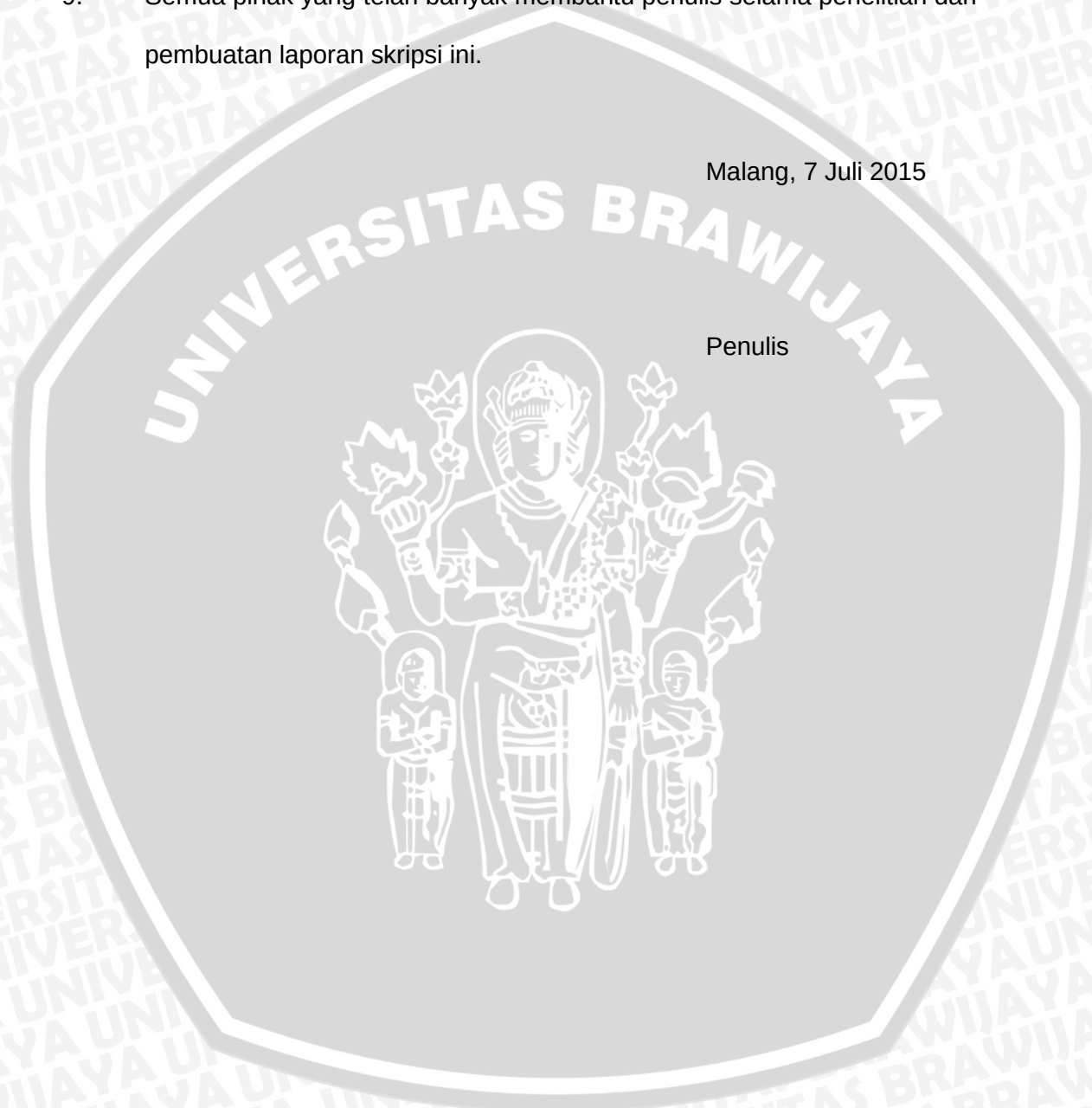
Pembuatan laporan skripsi ini tidak luput dari bantuan banyak pihak, untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Maftuch, M.Si., dan Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc., selaku dosen pembimbing yang telah membimbing penulis selama proses penyelesaian proposal hingga laporan skripsi.
2. Ir. Heny Suprastyani, MS., dan Ir. Ellana Sanoesi, MP., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran untuk menyempurnakan penulisan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Anik Martinah H., M.Sc. selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan arahan selama menempuh pendidikan s1.
4. Kedua orang tua. Papa Dr. Adriano, SH., MH., dan mama Siti Honimah, SH., Not., yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan kepada penulis baik secara moril maupun materil. Serta kakak Fristy Ninda Yuriza, SH., dan Adik saya Nina Farah Adela, Adrian Ali Akbhar yang selalu memberikan semangat kepada penulis.
5. Nesia Aryana dan Tammy Cebezta O.M., yang selalu memberikan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan penulisan skripsi ini
6. Teman-teman asrama B2/16-20 Indah Dwi Septami, Vika Lidyana, Hartika, S.AP., Widya Kusuma Wardani, dan Amelia Viya Kartika, S.AB., yang selalu menemani penulis selama menempuh studi.
7. Gani Abdurrahman yang selalu memberikan saran, kritikan, dan dukungan.

8. Teman-teman Mahasiswa Budidaya Perairan angkatan 2011 yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah turut serta memberikan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
9. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama penelitian dan pembuatan laporan skripsi ini.

Malang, 7 Juli 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PENYATAAN ORISINALITAS.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesa.....	5
1.5 Kegunaan Penelitian.....	5
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	5
2. TINJUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Karakteristik.....	7
2.1.3 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.1.4 Fase Pertumbuhan.....	8
2.1.5 Infeksi dan Tanda Penyerangan.....	9
2.2 Teripang Pasir (<i>Holothuria scabra</i>).....	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.2.2 Bahan Aktif Teripang Pasir (<i>Holothuria scabra</i>).....	10
2.2.3 Aktivitas Antimikroba.....	11
2.3 Metode Ekstraksi.....	12
2.4 Uji Efektivitas Secara <i>In Vitro</i>	13
2.4.1 Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	13
2.4.2 Uji Cakram.....	15
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Materi Penelitian.....	17
3.1.1 Alat-alat Penelitian.....	17
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian.....	18

3.2	Metodologi Penelitian	19
3.2.1	Metode Penelitian.....	19
3.2.2	Rancangan Penelitian	19
3.3	Tahapan Penelitian.....	21
3.3.1	Persiapan Penelitian.....	21
3.3.2	Pelaksanaan Penelitian.....	28
3.4	Parameter Uji.....	29
3.4.1	Parameter Utama	29
3.4.2	Parameter Penunjang.....	29
3.5	Analisis Data.....	29
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1	Uji MIC (<i>Minimum Inhibiting Concentration</i>).....	30
4.2	Uji Cakram.....	32
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1	Kesimpulan.....	39
5.2	Saran.....	39
	DAFTAR PUSTAKA	40
	LAMPIRAN	45



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>V. parahaemolyticus</i>	6
2. Teripang Pasir <i>H. scabra</i>	10
3. Denah Penelitian.....	20
4. Hasil Pengamatan Uji MIC Secara Visual Setelah Masa Inkubasi 24 jam	30
5. Hasil Pengamatan Uji Cakram	33
6. Hubungan Pemberian Dosis Ekstrak Kasar Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>) dengan Diameter Daya Hambat yang Dihasilkan.....	35



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pelarut dan sifatnya sebagai pengikat senyawa bioaktif	13
2. Respon hambat pertumbuhan bakteri	16
3. Alat penelitian	17
4. Bahan penelitian	18
5. Hasil Uji MIC (<i>Minimum Inhibitor Concentration</i>) dengan Perlakuan Dosis Ekstrak Kasar Teripang Pasir yang Berbeda-beda.....	31
6. Hasil Rata-rata Pengamatan Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>) pada Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	32
7. Klasifikasi Respon Hambat	33
8. Hasil Perhitungan Sidik Ragam Diameter Daya Hambat Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	34
9. Hasil Uji Beda Nyata (BNT) EKstrak Kasar Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>) terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian	45
2. Pembuatan Ekstrak Kasar Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>)	47
3. Identifikasi Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	48
4. Pembuatan Dosis Ekstrak Kasar Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>) Pada Uji MIC dan Uji Cakram.....	50
5. Hasil Uji Cakram	53
6. Perhitungan Statistik Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>)	54



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki potensi budidaya laut dengan luasan 2 juta Ha, terdiri dari potensi budidaya ikan (kakap, kerapu, gobia); udang, moluska (kerang-kerangan, mutiara, teripang); dan rumput laut. Angka produksi budidaya laut di Indonesia dapat mencapai nilai 46,73 juta ton per tahun (Lasabuda, 2013). Menurut Hatmanti (2003), kelompok besar biota laut yang banyak dibudidayakan selain ikan adalah dari kelompok krustasea salah satunya spesies udang windu yang banyak dibudidayakan masyarakat di daerah pantai.

Berdasarkan pada data FAO tahun 2008, udang windu *Penaeus monodon* merupakan salah satu komoditas budidaya unggulan di Asia karena memiliki keunggulan yang salah satu diantaranya ukuran panen yang lebih besar. Melihat besarnya potensi budidaya udang windu, para petambak memaksimalkan produksinya melalui sistem budidaya intensif. Namun seiring berkembangnya teknologi budidaya intensif, maka kendala yang dihadapi para petani pun semakin kompleks. Kendala yang dihadapi antara lain masalah serangan penyakit, pertumbuhan udang yang lambat, dan menurunnya kualitas lingkungan budidaya (Widanarni *et al.* 2102).

Menurut Kharisma dan Manan (2012), penyakit yang timbul pada organisme air umumnya dapat ditimbulkan oleh bakteri, virus, dan jamur namun apabila terjadi ketidakseimbangan antara inang, agen patogen, dan lingkungan. Pada budidaya udang, penyakit yang mudah timbul umumnya disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. (Ruangpan dan Kitao, 1991 *dalam* Kharisma dan Manan, 2012). Jenis bakteri ini mampu berkembang dengan cepat jika bahan organik dalam air tambak dalam jumlah banyak. Apabila populasi *Vibrio* sp. lebih banyak

dibanding dengan populasi bakteri yang lain maka dapat menyebabkan penurunan tingkat kelulushidupan udang pada masa pembenihan dan pembesarannya.

Menurut Hatmanti (2003), bakteri *Vibrio* spp. pada dasarnya bersifat oportunistik dan akan menjadi patogen apabila media pemeliharannya terjadi goncangan secara drastis, misalnya seperti perubahan suhu, pH, salinitas dan faktor lainnya. *Vibrio parahaemolyticus* merupakan agen penyebab *septicemia* pada udang saat periode *larva* dan *post larva*. *V. parahaemolyticus* juga mampu menyebabkan lisis pada sel-sel darah tubuh inang. Menurut Irianto (2005) dalam Indrarini *et al.* (2014), menyatakan bahwa serangan vibriosis bersifat *septicemia* dimana efek toksin bisa menyebar ke seluruh tubuh melalui sistem transportasi dalam tubuh, sehingga toksin bisa ditemukan jauh dari tempat infeksi.

Penanggulangan penyakit vibriosis yang biasa dilakukan para pembudidaya udang adalah menggunakan antibiotik. Antibiotik yang diberikan pada umumnya bisa berupa pakan, perendaman atau penyuntikan. Penggunaan kombinasi antibiotik yang tidak terkontrol umumnya dapat menyebabkan resistensi pada organisme yang dibudidaya (Pratama *et al.* 2014). Sehingga diperlukan pengembangan antibiotik yang berasal dari sumberdaya alam laut yang ramah lingkungan. Teripang (*Holothuria* sp.) merupakan salah satu biota laut Indonesia yang berpotensi sebagai sumber daya alam penyedia bahan baku industri farmasi (Roihanah *et al.* 2012).

Teripang pasir (*Holothuria scabra*) merupakan salah satu bahan alam yang kaya akan metabolit sekunder, diantaranya steroid, sapogenin, saponin, triterpenoid, glycosaminoglycan, lektin, alkaloid, fenol dan flavonoid (Bordbar *et al.*, 2011). Menurut Nimah *et al.* (2012), berdasarkan penelitian sebelumnya antibakteri yang merupakan hasil metabolit sekunder teripang pasir (*H. scabra*)

yang paling berpotensi sebagai antibakteri adalah *steroid*, *saponin*, dan *triterpenoid*. Menurut Roihanah (2012), secara umum golongan Triterpenoid mampu merusak membran sel, mengnon-aktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan akibat penurunan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan ion-ion organik yang penting masuk ke dalam sel sehingga berakibat terhambatnya pertumbuhan bahkan hingga mematikan sel. Selain itu Saponin juga berperan dalam mengubah tegangan muka dan mengikat lipid pada sel bakteri yang menyebabkan lipid terekskresi dari dinding sel sehingga permeabilitas membran bakteri terganggu (Wardhani dan Sulistyani, 2012). Oleh karena itu, berdasarkan pemaparan penelitian yang telah ada sebelumnya maka penelitian mengenai efektivitas ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dalam menghambat pertumbuhan *V. parahaemolyticus* secara in vitro perlu dilakukan sebagai peninjauan lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri yang dapat menginfeksi udang saat periode larva dan post larva, sehingga dapat menyebabkan septicemia dan mampu menyebabkan lisis pada sel-sel darah inang. Selain itu apabila udang yang telah terinfeksi bakteri *V. parahaemolyticus* tersebut dikonsumsi maka konsumen akan terjangkit penyakit *gastroenteritis* (Hatmanti, 2003). Melihat kondisi tersebut tentunya para petani budidaya mengupayakan untuk menanggulangi penyakit yang menyerang, salah satunya adalah dengan menggunakan antibiotik dan bahan kimia. Namun penggunaan antibiotik dan bahan kimia dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan dampak negatif

terhadap lingkungan perairan dan menimbulkan resistensi patogen (Melki *et al.* 2011).

Berdasarkan penelitian terdahulu mengemukakan bahwa penggunaan ekstrak teripang pasing (*H. scabra*) merupakan salah satu alternative yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan penyakit. Teripang pasir pada umumnya menghasilkan metabolit sekunder berupa bahan bioaktif yang sangat berpotensi sebagai antibakteri. Bahan bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri diantaranya *steroid*, *saponin*, dan *triterpenoid* (Nimah *et al.* 2012). Berikut rumusan masalah yang dapat dipaparkan berdasarkan uraian diatas:

- Apakah pemberian ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) berpengaruh dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*?
- Berapa dosis ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) yang efektif dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berikut tujuan penelitian yang dapat dipaparkan untuk menjawab rumusan masalah yang ada :

- Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*.
- Mengetahui dosis ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) yang efektif dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* secara *in vitro*.

1.4 Hipotesa

H₀ : Diduga penggunaan ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) sebagai antibakteri tidak berpengaruh dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus*.

H_1 : Diduga penggunaan ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) sebagai antibakteri memberikan pengaruh dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus*.

1.5 Kegunaan Penelitian

Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan sumber daya alam laut yaitu Teripang Pasir (*H. scabra*) sebagai antibakteri ramah lingkungan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* pada ikan maupun udang budidaya yang terinfeksi. Sehingga nantinya dapat di aplikasikan oleh para pembudidaya.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada Tanggal 5 April hingga 3 Mei Tahun 2015.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *V. parahaemolyticus*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Berikut klasifikasi pada bakteri *V. parahaemolyticus* menurut Shimura et al. (2013) :

Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Vibrionales
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio parahaemolyticus</i>

Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri halofilik gram negative (De Paola et al. 1998 dalam Felix et al. 2011), memiliki diameter 3-5 mm, warna koloni biru kehijauan, pusat koloni berwarna hijau tua, memiliki banyak flagella (Richie, 2005 dalam Felix et al. 2011). Berdasarkan Subkomite Internasional Taksonomi bakteri *Vibrio* termasuk kedalam family Vibrionaceae (Lesmana, 2006).



Gambar 1. Morfologi *V. parahaemolyticus* (Fox, 2004)

2.1.2 Karakteristik

Bakteri *V. parahemolyticus* merupakan organisme yang memiliki sifat halofilik yaitu hanya dapat tumbuh pada lingkungan yang berkadar garam antara 3% - 6,5%, selain itu bakteri *V. parahaemolyticus* juga bersifat aerob dan fakultatif anaerob (Lesmana, 2006). Ciri koloni *V. parahaemolyticus* pada umumnya berwarna biru sampai kehijauan (Felix, et al. 2011). Menurut Halim dan Zubaidah (2013), pada umumnya bakteri Gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba karena memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks, yaitu lapisan luar berupa lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan.

Menurut Molitoris et al. (1985), dari hasil isolasi di lingkungan daerah beriklim sedang telah terbukti adanya bakteri *V. parahaemolyticus* hal ini tersebut dengan suhu air. Sedangkan hasil isolasi di perairan tropis juga membuktikan adanya *V. parahaemolyticus* yang tampaknya berkaitan dengan musin (hujan atau kemarau), dan salinitas. Pada umumnya penyebaran bakteri *V. parahaemolyticus* berada di kawasan muara.

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Spesies *Vibrio* patogenik tidak terkecuali *V. parahaemolyticus* banyak sekali ditemukan hidup bersamaan dengan mollusca dan crustacean, dan juga terdapat didalam air maupun di sedimen permukaan (Lesmana, 2006). Penyebaran bakteri *V. parahaemolyticus* berada di perairan pantai tropis diseluruh dunia (Felix, et al. 2011), sedangkan untuk wilayah perairannya yang memiliki suhu berada dibawah 20°C maka kepadatan *V. parahaemolyticus* akan sangat berkurang (Lesmana, 2006).

Halofilik *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri yang hidup di laut dan dengan kondisi perairan berkadar garam tinggi. Menurut Kaneko and Colwell

(1975) dalam Qadri *et al.* (2005), *V. parahaemolyticus* telah menunjukkan bahwa memiliki efisiensi tertinggi untuk mengadsorpsi kitin dibandingkan dengan strain bakteri lainnya yang telah teruji, dan efek adsorpsi adalah salah satu faktor utama yang menentukan distribusi spesies ini dalam ekosistem estuari.

2.1.4 Fase Pertumbuhan

Menurut Dias (2003), pada beberapa bakteri pertumbuhan meliputi peningkatan ribosom, duplikasi kromosom bakteri, sintesa dinding sel baru dan membran plasma, pemisahan dua kromosom bakteri, pembentukan septa dan bagian-bagian sel. Interval waktu yang dibutuhkan sel bakteri atau populasi sel untuk membelah atau menggandakan diri disebut waktu generasi. Waktu generasi dapat dihitung pada saat fase eksponensial dengan rumus sebagai berikut (Pelczar dan Chan, 1986).

$$\text{Kecepatan pertumbuhan eksponensial (V)} = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2 (t - t_0)}$$

Ket :

N = jumlah bakteri pada waktu tertentu

N₀ = jumlah bakteri pada waktu awal

t = waktu pada saat bakteri mencapai jumlah tertentu

t₀ = waktu awal

Sehingga, dapat diketahui waktu generasi (G) = $\frac{1}{V}$

Menurut Handayani *et al.* (2006), fase pertumbuhan pada bakteri terdiri atas fase lag, eksponensial, stationer, dan kematian. Fase adaptasi (lag) merupakan masa penyesuaian bagi bakteri dan tidak terjadi pertambahan jumlah sel. Fase eksponensial (log) merupakan fase pertumbuhan yang memiliki laju pertumbuhan spesifik yaitu laju pembelahan sel yang tetap. Fase stationer adalah saat jumlah sel mencapai maksimal, laju pembiakan berkurang dan beberapa sel mati yang ditunjukkan oleh menyusutnya nutrient dalam media.

2.1.5 Infeksi dan Tanda Penyerangan

V. parahaemolyticus merupakan salah satu spesies bakteri yang seringkali menginfeksi udang yang sebelumnya telah mengalami defisiensi vitamin C, toxin, luka dan stres berat sehingga menyebabkan septicemia. Septicemia merupakan infeksi sekunder yang dapat menyerang udang pada masa larva dan post larva (Prihatman, 2000).

Pada beberapa Negara *V. parahaemolyticus* telah menyerang udang windu (*P. monodon*) yang menyebabkan timbulnya penyakit merah atau sering disebut penyakit kaki merah. Tanda-tanda awal udang terserang penyakit merah ini adalah semakin mengecilnya ukuran hepatopankreas, sering menepi dibagian tambak, badan udang terasa lebih lunak, jaringan otot terlihat putih kusam (Kordi, 2007)

Teripang Pasir (*H. scabra*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Berdasarkan pada penelitian terdahulu spesies teripang pasir (*H. scabra*) ini tergolong dalam filum Echinodermata (Sendih dan Gunawan, 2006). Berikut klasifikasi teripang pasir :

- Filum : Echinodermata (Sendih dan Gunawan, 2006)
- Kelas : Holothuroidea
- Ordo : Holothuroidea dan Stichopodidae (Yusron, 2004)
- Genus : *Holothuria* (Rustam, 2006)
- Spesies : *Holothuria scabra*

Teripang merupakan anggota *sea cucumbers* atau mentimun laut (Sendih dan Gunawan, 2006). Morfologi dari teripang pada umumnya adalah bentuk badan memanjang seperti silinder atau memanjang agak memipih dengan mulut dan anus terletak pada ujung yang berlawanan. Kulit luar teripang pasir terdiri

atas lapisan yang melekat kuat dan kasar dengan rangka berbentuk jarum atau keping-keping kecil yang berkapur dan menyebar dalam jaringan dinding tubuh (Sudrajat, 2002).

Teripang tergolong hewan invertebrate (tidak bertulang belakang), namun tidak semua jenis teripang memiliki duri lunak pada kulit tubuhnya. Duri pada teripang merupakan rangka yang mengandung zat kapur. Panjang dan berat teripang pasir (*H. scabra*) adalah 25-35 cm dengan berat 0,25-0,35 kg (Sendih dan Gunawan, 2006).



Gambar 2. Teripang Pasir *H. scabra* (Aras, 2013).

2.2.2 Bahan Aktif Teripang Pasir (*H. scabra*)

Teripang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang potensial diantaranya terkandung senyawa steroid (Raini *et al.* 2010), Terpenoid (Roihanah *et al.* 2012), senyawa fenil propanoid dari golongan eskulin sebagai pengaturan tumbuh dan pertahanan terhadap penyakit (Suhermanto *et al.* 2013). Melalui identifikasi kandungan metabolit sekunder dapat dikehutui kandungan senyawa bioaktif baru dari bahan alam. Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya (Rasyid, 2012).

Metabolit sekunder yang diperoleh dari menggunakan ekstrak polar *H. scabra* adalah glikosida triterpen sulfat, scabraside A dan B dan mereka memiliki

sitotoksitas. Glikosida triterpen adalah metabolit sekunder yang dominan pada teripang (*holothurians*) dan bertanggung jawab atas toksisitas. Glikosida ini telah dilaporkan memiliki spektrum yang luas dari efek biologis, termasuk sitotoksik, antijamur, hemolitik, dan aktivitas imunomodulator. Lebih dari 100 dari glikosida tersebut telah dijelaskan, dan mayoritas adalah lanosterol tipe triterpen dengan 18 lakton dan rantai gula terkait dengan C-3 dari aglikon (Dhinakaran dan Lipton, 2014).

2.2.3 Aktivitas Antimikroba

Menurut Pranoto *et al.* (2012), *H. scabra* yang diekstrak dengan berbagai pelarut akan menghasilkan senyawa sesuai dengan tingkat kepolarannya. Pada pelarut metanol akan mengambil senyawa yang bersifat polar, etil asetat akan mengambil senyawa yang bersifat semi polar dan heksan akan mengambil senyawa yang bersifat non polar dari sampel. Senyawa yang terkandung dan diduga berperan sebagai antijamur dalam *H. scabra* adalah alkaloid, saponin dan triterpen seperti yang ada pada ekstrak metanol. Ekstrak etil asetat hanya mengandung saponin dan triterpen sehingga aktivitas antijamurnya lebih kecil dari pada ekstrak metanol. Menurut Halim dan Zubaidah (2013), sifat antimikroba merupakan suatu kemampuan antagonistik suatu senyawa kimia untuk menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan. Aktivitas antimikroba terhadap bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik merupakan aktivitas antibakterial dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan bakteriosidal merupakan aktivitas antibakteri dalam membunuh bakteri (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Rohaniah *et al.* (2013), secara umum golongan Triterpenoid mampu merusak membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan karena penurunan permeabilitas .

Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan ion-ion organik yang penting masuk ke dalam sel sehingga berakibat terhambatnya pertumbuhan bahkan hingga mematikan sel. Menurut Nuria *et al.* (2009), mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Efek utama saponin terhadap mikroba adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel (Hardiningtyas, 2009). Menurut Gholib (2009) dalam Sari *et al.* (2014), alkaloid merupakan senyawa yang bersifat antimikroba, yaitu dapat menghambat DNA serta RNA polymerase, menghambat respirasi sel, selain itu alkaloid merupakan activator kuat bagi sel imun yang menghancurkan bakteri, virus, dan sel kanker.

2.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan menggunakan bantuan pelarut. Proses pemisahan berdasarkan kemampuan larut yang berbeda dari komponen – komponen yang ada dalam campuran. Suatu proses ekstraksi biasanya melibatkan tahap-tahap berikut (Novia *et al.* 2009) :

- a. Pencampuran bahan ekstraksi dengan pelarut dan membiarkannya saling kontak. Dalam hal ini terjadi perpindahan massa secara difusi pada bidang antar muka bahan ekstraksi dengan pelarutnya. Dengan demikian terjadi pelarutan ekstrak.
- b. Memisahkan larutan ekstrak dari rafinat (residu ekstraksi) yaitu bahan ekstraksi setelah diambil ekstraknya
- c. Mengisolasi ekstrak dari larutan ekstrak dan mendapatkan kembali pelarut, umumnya dilakukan dengan menguapkan pelarut. Dalam hal-hal

tertentu larutan ekstrak dapat langsung diolah lebih lanjut atau diolah setelah dipekatkan.

Proses ekstraksi terdiri dari penghancuran bahan, penimbangan, perendaman dengan pelarut, penyaringan, dan tahap pemisahan. Menurut Putra *et al.* (2014), maserasi adalah proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin diskontinyu. Keuntungannya yakni lebih praktis, pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan tidak memerlukan pemanasan, tetapi waktu yang dibutuhkan relatif lama.

Pada proses ekstraksi pelarut memegang peranan penting karena mempengaruhi keberhasilan atau tidaknya suatu proses ekstraksi. Jenis pelarut yang biasa digunakan meliputi etanol, metanol, etil asetat, heksana dan air. Penentuan jenis pelarut bergantung pada polaritas dan gugus polar dari sifat kandungan senyawa yang akan di isolasi (Septiana dan Asnani, 2012). Pada umumnya pelarut memiliki dua sifat yaitu polar, semi polar, dan non polar. Berikut daftar jenis pelarut dan sifatnya sebagai pengikat senyawa bioaktif:

Tabel 1. Pelarut dan sifatnya sebagai pengikat senyawa bioaktif

Pelarut	Sifat	Bioaktif
Metanol, etanol	Polar	Flavonoid, saponin, triterpenoid, glikosida
Etil asetat, aseton	Semi polar	Alkaloid, glikon, aglikon
Heksana, petroleum eter	Nonpolar	Tannin, steroid, karotenoid

Sumber : Septiana dan Asnani, (2012).

2.4 Uji Efektivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

2.4.1 *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Menurut Forbes *et al.* (2002) dalam Purnamasari *et al.* (2010), *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) adalah konsentrasi (presentase kandungan bahan dalam satu larutan) terendah dari sebuah antibakteri yang menghambat pertumbuhan dan sebuah mikroorganisme setelah diinkubasi. Metode pengujian

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Ibrahim *et al.* (2013), dilakukan dengan menggunakan metode *serial tube dilution* yaitu dengan membuat ekstrak berkonsentrasi pada media cair MHB (*Muller Hilton Broth*). Tabung reaksi yang digunakan sebagai wadah di isi MHB sebanyak 4,5 ml lalu ditambahkan 0,5 ml ekstrak secara berseri dengan konsentrasi yang berbedabeda pada masing-masing tabung lalu diinokulasi bakteri dengan kepadatan 10^7 cfu/ml, kemudian di inkubasi selama 24 jam. Tahap pengamatan meliputi penentuan ekstrak yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri, pengukuran zona hambat dan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Nilai MIC ditunjukkan oleh konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri (jernih) (Sumino *et al.* 2013).

Uji *Minimum inhibitory concentration* (MIC) didapatkan dengan pengujian metode micro broth dilution juga ditinjau oleh Nursidika *et al.* (2014), yaitu menggunakan microplate dan media brain heart infussion (BHI) broth (OXOID CM1135). Pada kolom pertama yaitu sebanyak 100 μ L BHI broth dimasukkan ke dalam pelat mikro sebagai kontrol negatif. Suspensi mikrob sebanyak 5 μ L ditambahkan ke dalam 10 mL BHI broth kemudian diaduk dengan alat vorteks. Sebanyak 100 μ L campuran tersebut dimasukkan ke dalam pelat mikro pada kolom kedua sampai kedua belas. Pada kolom ke-12, ditambahkan 100 μ L larutan ekstrak kemudian dihomogenkan, diambil sebanyak 100 μ L kemudian dipindahkan ke kolom ke-11. Pengenceran terus dilakukan sampai pada kolom ketiga yang akan memiliki konsentrasi terkecil. Pelat diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam kemudian diamati bagian yang jernih (tidak ada pertumbuhan mikrob). Konsentrasi terkecil tidak terlihat pertumbuhan mikrob ditetapkan sebagai MIC. Sebanyak 5 μ L aliquot dari setiap bagian yang jernih dipindahkan dalam nutrien agar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam kemudian diamati. Konsentrasi terendah tidak

terlihat pada pertumbuhan mikrob ditetapkan sebagai minimum killing concentration (MKC).

2.4.2 Uji Cakram

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram pada umumnya bertujuan untuk mengontakkan senyawa aktif dengan media dan mikroba uji (Marliana dan Saleh, 2011). Tahapan pada metode *Kirby-Bauer* atau yang lebih dikenal dengan sebutan metode kertas cakram adalah setiap kertas cakram kosong dipanaskan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 70°C selama 15 menit. Ukuran diameter kertas cakram yang biasa digunakan adalah 0,5 cm (Mulyadi *et al.* 2013). Setelah kertas cakram dioven kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji hingga seluruh permukaan basah. Cakram yang telah berisi supernatan, kemudian didiamkan selama 15 menit sebelum diletakkan pada media uji. Kemudian secara aseptik, setelah kertas cakram menyerap supernatan tersebut, masing-masing diletakkan pada permukaan medium yang telah berisi mikroba uji. Jumlah kertas cakram yang diletakkan dalam satu cawan petri berisi $\pm 6-7$ buah, dan masing-masing jarak antara cakram diatur supaya tidak terlalu dekat (Noverita *et al.* 2009).

Hasil uji aktivitas antibakteri pada kertas cakram dapat dilihat setelah masa inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C (Marliana dan Saleh, 2011). Besar kecilnya pengaruh antibakteri ditunjukkan pada luas diameter zona bening yang berada disekitar kertas cakram yang memiliki konsentrasi tertentu. Konsentrasi terkecil dari sampel yang mampu menghambat bakteri yang diinokulasikan dengan terbentuknya zona bening merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari sampel tersebut (Mulyadi *et al.* 2013). Menurut Suryawiria, (2005), klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri dapat di kelompokkan menjadi empat respon, yaitu sebagai berikut (Tabel 2).

Tabel 2. Respon hambat pertumbuhan bakteri

No.	Diameter Zona Bening (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
1.	< 5	Lemah
2.	5 – 10	Sedang
3.	10 – 19	Kuat
4.	> 20	Sangat Kuat

Sumber : Suryawiria, (2005).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Berikut daftar alat beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini tercantum pada Tabel 3, sedangkan gambar alat penelitian disajikan pada Lampiran 1.

Tabel 3. Alat Penelitian

No.	Alat	Fungsi
1.	Pisau atau Gunting	Sebagai pemotong teripang pasir
2.	Baskom	Sebagai tempat teripang pasir
3.	Timbangan Digital	Sebagai penimbang berat media TSB dan TCSBA yang dibutuhkan
4.	Erlenmeyer	Sebagai wadah pembuatan media TSB, dan TCBSA
5.	Gelas Ukur	Sebagai pengukur volume larutan
6.	Cawan Petri	Sebagai wadah pengkulturan bakteri
7.	Spatula	Sebagai alat penghomogen larutan
8.	Tabung Reaksi	Sebagai tempat reinokulasi dan uji MIC
9.	Autoclave	Sebagai tempat sterilisasi alat dan media yang akan digunakan
10.	Rotary vacum evaporator	Sebagai alat untuk mendapatkan ekstrak kasar teripang pasir
11.	<i>Cotton Swab</i>	Sebagai penggores bakteri pada media TCBS saat hendak uji cakram
12.	Toples Kaca	Sebagai wadah perendaman atau maserasi teripang pasir
13.	Hotplate	Sebagai pemanas media TSB, dan TCBSA hingga homogen
14.	Lemari Pendingin	Sebagai tempat penyimpanan bahan-bahan penelitian
15.	Vortex	Sebagai alat penghomogen larutan
16.	Mikro Pipet	Sebagai alat pengambil larutan dalam skala kecil
17.	Magnetic Stirer	Sebagai alat bantu menghomogenkan larutan
18.	Pipet tetes	Mengambil larutan dalam skala kecil
19.	Jangka Sorong	Mengukur diameter zona bening pada uji cakram
20.	Pinset	Mengambil dan meletakkan kertas cakram pada proses uji cakram
21.	Inkubator	Tempat penyimpanan bakteri pada

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Berikut daftar bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini tercantum pada Tabel 4.

Table 4. Bahan Penelitian

No.	Bahan	Fungsi
1.	Teripang Pasir	Sebagai bahan dasar pembuatan ekstrak teripang pasir
2.	Ekstrak Teripang Pasir	Sebagai bahan yang akan diuji kemampuan daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri
3.	Bakteri <i>V. parahaemolyticus</i>	Sebagai bahan uji daya hambat pertumbuhan
4.	Etanol 96%	Sebagai pelarut teripang pasir saat proses perendaman
5.	Alkohol 90%	Sebagai pengkondisian aseptis
6.	TSB (<i>Triptycase Soy Broth</i>)	Sebagai media tumbuh bakteri dalam bentuk cair
7.	Tali kasur	Sebagai pengikat alat saat proses sterilisasi
8.	<i>Tissue</i>	Sebagai pembersih alat yang akan dan telah digunakan
9.	DMSO ₄ 10%	Sebagai larutan pengencer ekstrak teripang pasir
10.	Kapas	Sebagai penutup mulut tabung reaksi dan erlenmeyer
11.	Kertas Saring	Sebagai penyaring etanol saat proses maserasi teripang pasir
12.	Akuades	Sebagai pelarut dalam pengenceran bakteri
13.	Alumunium Foil	Sebagai penutup mulut tabung reaksi dan erlenmeyer
14.	Spiritus	Sebagai bahan bakar pada bunsen
15.	Kertas Koran	Sebagai pembungkus alat yang akan disterilisasi
16.	Kertas Cakram	Sebagai bahan untuk mengetahui besar daya hambat ekstrak teripang pasir
17.	Kertas Label	Sebagai penanda alat yang digunakan
18.	Sarung Tangan	Sebagai penutup tangan
19.	TCBSA	Sebagai media hidup bakteri saat akan dilakukan pengujian daya hambat ekstrak teripang pasir.

3.2 Metodologi Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan suatu percobaan yang selalu dilakukan dalam kondisi dimana satu atau beberapa variabelnya dapat dikontrol (variable tetap dan bebas) (Nasution, 2012). Tujuan dari eksperimen adalah untuk menemukan faktor-faktor penyebab dan akibat yang timbul dari interaksi variable-variabel. Pengambilan data interaksi variable dilakukan melalui observasi langsung, yaitu pengamatan secara langsung gejala-gejala objek penelitian dalam situasi sebenarnya maupun situasi buatan dalam rangka pengujian hipotesis (Surachmad, 1978).

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Pada RAL bahan percobaan yang digunakan harus bersifat homogen, baik dari segi makhluk hidup (hewan dan tumbuhan) yang digunakan sebagai bahan percobaan maupun tempat melakukan percobaan (Tanujaya, 2013).

Berikut model RAL yang digunakan :

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

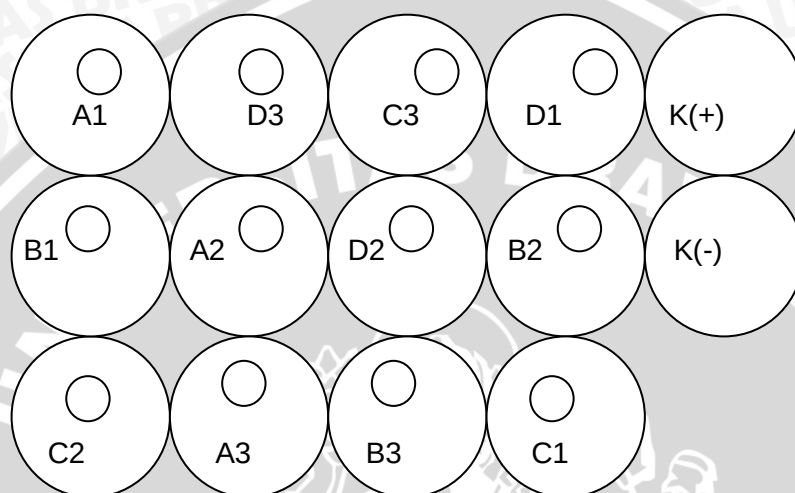
μ = nilai rerata harapan (*mean*)

τ = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa pemberian ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dengan perlakuan dosis yang berbeda-beda

pada bakteri *V. parahaemolyticus*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*). Pada penelitian ini terdapat 4 perlakuan dengan 3 ulangan. Berikut denah penelitian disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah Rancangan Penelitian

Keterangan :

Perlakuan A : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media dan diletakkan kertas cakram mengandung ekstrak kasar teripang pasir *H. scabra* berkonsentrasi 250 ppt.

Perlakuan B : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media dan diletakkan kertas cakram mengandung ekstrak kasar teripang pasir *H. scabra* berkonsentrasi 275 ppt.

Perlakuan C : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media dan diletakkan kertas cakram mengandung ekstrak kasar teripang pasir *H. scabra* berkonsentrasi 300 ppt.

Perlakuan D : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media dan diletakkan kertas cakram mengandung ekstrak kasar teripang pasir *H. scabra* berkonsentrasi 325 ppt.

1,2, dan 3 : Sebagai ulangan

Kontrol positif : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media dengan diberikan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) murni.

Kontrol negatif : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media tanpa diberikan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*).

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Media

Sterilisasi pada alat dan media dimaksudkan untuk menghindari kontaminasi dari mikroorganisme yang tidak diinginkan atau suatu bentuk pemusnahan terhadap mikroorganisme yang tidak diinginkan. Berikut alat dan media yang akan disterilisasi menggunakan autoclave diantaranya adalah cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, TCBSA, dan TSB. Sedangkan alat-alat yang disterilisasi hanya menggunakan pijaran api pada busen adalah jarum ose dan spatula.

Berikut tahapan sterilisasi alat dan media menggunakan autoclave :

- Alat-alat seperti cawan petri, tabung reaksi dan erlenmeyer dicuci terlebih dahulu menggunakan sabun antibakteri. Kemudian alat-alat tersebut dikeringkan, setelah kering dilakukan pembungkusan alat menggunakan kertas koran dan diikat menggunakan tali kasur. Sebelum dilakukan pembungkusan menggunakan koran, alat seperti tabung reaksi dan erlenmeyer pada ujungnya ditutup terlebih dahulu menggunakan kapas. Sedangkan media seperti TCBSA, dan TSB sebelumnya telah diletakkan pada erlenmeyer yang telah disterilisasi dan ujung erlenmeyer telah tertutup rapat dengan kapas dan aluminium foil.
- Memastikan ketersediaan akuades pada autoclave. Apabila jumlah akuades tidak sampai menutup konduktor maka harus ditambahkan akuades agar proses sterilisasi dapat berlangsung cepat. Setelah jumlah akuades cukup untuk menutupi konduktor, tempat berbahan *stainless steel* diletakkan tepat diatas konduktor untuk meletakkan alat-alat dan media yang akan disterilisasi.

- Alat dan media dimasukkan kedalam autoclave, setelah itu autoclave ditutup dengan cara mengunci baut yang berada pada disekeliling autoclave secara diagonal. Penutupan secara diagonal dimaksudkan agar dapat terkunci dengan benar dan rapat.
- Autoclave disambungkan pada aliran listrik, setelah itu dapat ditunggu hingga suhu 121°C dan tekanan antara 15-17,5 psi (*pound per square inci*) atau 1 atm selama 1 jam.
- Autoclave dapat dimatikan. Ditunggu hingga uap pada klep keluar dan tekanan pada autoclave menurun. Apabila tekanan pada autoclave telah menurun yaitu pada tekanan 0 psi, maka autoclave dapat dibuka secara diagonal.
- Alat dan media yang telah disterilkan dapat diambil. Untuk alat berupa erlenmeyer, tabung raksi dan cawan petri yang nantinya akan digunakan dapat disimpan terlebih dahulu pada lemari penyimpanan yang telah diaseptiskan menggunakan alkohol 90%. Sedangkan media berupa TCBSA, dan TSB dapat disimpan pada lemari pendingin atau kulkas.

Sedangkan prosedur untuk sterilisasi alat berupa jarum ose dan spatula menggunakan pijaran api pada bunsen adalah sebagai berikut :

- Bunsen yang telah terisi spiritus disiapkan. Pastikan spiritus menutupi sumbu agar api dapat bertahan lama.
- Pada ujung sumbu, api dinyalakan.
- Jarum ose dan spatula pada bagian ujung yang akan digunakan dibakar di atas api bunsen hingga berpijar. Sebelumnya jarum ose dan spatula telah dicuci menggunakan sabun antibakteri terlebih dahulu.

b. Pembuatan Ekstrak Teripang Pasir (*H. scabra*)

Teripang pasir (*H. scabra*) merupakan kekayaan sumberdaya laut yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, dimana kandungan bioaktif yang terkandung diantara berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan triterpen. Oleh karena itu diperlukannya proses ekstraksi yang dapat memisahkan senyawa bioaktif yang dihasilkan dalam tubuh sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Proses ekstraksi teripang pasir (*H. scabra*) dapat dilihat pada Lampiran 2.

Tahapan proses ekstraksi teripang pasir (*H. scabra*) diantaranya meliputi penyediaan teripang pasir yang masih dalam kondisi segar sebanyak 10 kg, pembersihan teripang pasir dari pasir yang terdapat di bagian dalam tubuh teripang, dan mengeringkan teripang pasir *H. scabra* dibawah paparan sinar matahari langsung. Setelah teripang pasir mengering, maka tahapan selanjutnya adalah proses maserasi atau perendaman.

Pada proses maserasi atau perendaman teripang pasir (*H. scabra*) menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1.12 liter untuk 560 gram berat teripang pasir kering. Proses maserasi berlangsung selama 2x24 jam dengan 1 kali penggantian pelarut etanol 96% yang dilakukan tiap 24 jam. Penggantian etanol 96% setelah 24 jam dilakukan dengan cara menuangkan ke sebuah wadah yang diberi kertas saring. Kemudian ekstrak etanol 96% tersebut diuapkan menggunakan *rotary evaporator vacum* untuk menghilangkan kadar etanol sehingga didapatkan ekstrak kasar teripang pasir 23,58 gram. Apabila ekstrak belum mencapai kepekatan maka langkah selanjutnya adalah proses penguapan pada *waterbath*.

c. **Pembuatan Media Hidup Bakteri *V. parahaemolyticus***

- **Media Tryptone Soya Broth (TSB)**

Pembuatan media TSB dimaksudkan sebagai media hidup bakteri atau media reinokulasi bakteri *V. parahaemolyticus* yang sebelumnya ada pada media TCBSA miring. Bahan-bahan yang diperlukan diantaranya 0,3 gram media TSB, 0,0075 gram KCl, 0,069 gram $MgSO_4$, dan 0,18 gram NaCl, serta akuades sebanyak 10 ml. Setelah bahan-bahan yang dibutuhkan telah siap, maka langkah selanjutnya adalah menyiapkan erlenmeyer steril sebagai tempat penghomogen media dengan akuades. Proses penghomogenan dilakukan diatas hot plate dan dibantu dengan magnetic stirrer untuk mengaduk larutan media TSB selama ± 15 menit. Sebelum dipanaskan diatas hot plate, erlenmeyer telah ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Setelah homogen larutan media TSB dapat disterilisasi dalam autoclave dengan suhu $121^{\circ}C$ selama 15-20 menit, hal ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

Kemudian media TSB yang telah steril dapat dituangkan ke dalam tabung reaksi. Media TSB yang telah siap dapat langsung digunakan untuk mengreinokulasi bakteri *V. parahaemolyticus* sebanyak satu atau dua ose dari agar miring.

- **Media Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose Agar (TCBSA)**

Pembuatan media TCBSA dalam 280 ml akuades dibutuhkan bubuk TCBSA sebanyak 24,64 gram, KCl 0,21 gram, $MgSO_4$ 1,94 gram, dan NaCl 5,15 gram. Semua bahan yang telah siap dapat dituangkan ke dalam erlenmeyer steril untuk dilarutkan kedalam akuades. Setelah itu dilakukan proses penghomogenan diatas hotplate. Waktu yang dibutuhkan untuk proses penghomogenan ± 15 menit. Setelah homogen, TCBSA dituangkan ke

dalam 14 cawan petri, setiap cawan petri berisikan 20 ml media TCBSA. Media TCBSA yang telah siap dapat langsung digunakan untuk mengreinokulasi bakteri *V. parahaemolyticus* dan melakukan uji efektivitas antibakteri atau uji cakram.

d. Reinokulasi Bakteri *V. parahaemolyticus*

Menginokulasi ulang bakteri *V. parahaemolyticus* dengan media TCBSA miring bertujuan untuk memperbarui kebutuhan nutrient yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh atau regenerasi. Inokulan murni bakteri *V. parahaemolyticus* yang sebelumnya didapatkan dari Balai Karantina Ikan Semarang diambil secara aseptis menggunakan jarum ose sebanyak satu ose dari TCBSA miring. Kemudian dipindahkan kedalam media TCBSA miring yang baru dengan metode zig zag. Setelah itu tabung reaksi ditutup hingga rapat agar tidak terjadi kontaminasi dengan bakteri lain.

Peremajaan bakteri pada media TCBSA miring dilakukan dalam incubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri pada media TCBSA miring akan terlihat keruh pada permukaan media setelah 24 jam. Setelah tumbuh, bakteri dalam media dapat disimpan pada lemari pendingin. Hasil identifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* dapat dilihat pada Lampiran 3.

e. Kultur Bakteri *V. parahaemolyticus*

Kultur bakteri pada media *Tryptone Soya Broth* (TSB) bertujuan untuk menumbuhkan sel bakteri yang muda (regenerasi) sehingga mampu beradaptasi pada media baru. Inokulan bakteri *V. parahaemolyticus* yang ada pada media *Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose Agar* (TCBSA) miring diambil menggunakan jarum ose sebanyak satu ose. Satu ose bakteri *V. parahaemolyticus* dimasukkan kedalam 10 ml media TSB pada tabung

reaksi secara aseptis. Kemudian dilakukan pengocokkan tabung reaksi berisikan TSB dan bakteri *V. parahaemolyticus* menggunakan vortex agar bakteri tidak membentuk koloni.

Setelah *V. parahaemolyticus* tercampur merata pada TSB, langkah selanjutnya adalah menginkubasi selama 24 jam dengan temperature 37°C. Tujuan dilakukan inkunbasi adalah untuk mengkondisikan lingkungan pada suhu optimum pertumbuhan bakteri sehingga bakteri dapat tumbuh dengan baik. Pertumbuhan bakteri dalam TSB dapat terlihat apabila menunjukkan kekeruhan pada media TSB.

f. Menentukan Kepadatan Bakteri *V. parahaemolyticus* (Metode Pengenceran)

Pada pengenceran bakteri dibutuhkan larutan NaCl fisiologis 0,9%. Pembuatan NaCl fisiologis 0,9% menggunakan rumus $0,9 \times \Sigma \text{kebutuhan}$ aquades (10 ml/tabung reaksi). Kemudian dilakukan sterilisasi pada NaCl fisiologis 0,9%. Setelah NaCl fisiologis 0,9% telah siap langkah selanjutnya adalah 1 ml media TSB yang berisikan koloni bakteri uji di ambil menggunakan pipet tetes, kemudian diinokulasikan dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 9 ml. Setelah itu kekeruhannya diseragamkan dengan menggunakan standar McFarland 0,5 (kepadatan bakteri $1,5 \times 10^7$ cfu/ml) pada latar belakang hitam dan cahaya terang. Dengan demikian didapatkan kepadatan bakteri *V. parahaemolyticus* yang diinginkan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Apabila kepadatan bakteri belum mencapai kepadatan yang diinginkan maka dapat dilakukan pengenceran bertingkat yaitu dengan cara menginokulasikan bakteri yang sebelumnya ada pada tabung reaksi pertama ke dalam tabung reaksi berikutnya yang berisikan NaCl fisiologis 0,9%. Pengulangan pengenceran kepadatan bakteri dapat dilakukan hingga memperoleh kepadatan yang diinginkan.

g. **Menghitung Dosis Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*H. scabra*)**

Perhitungan dosis dapat dilakukan setelah penentuan stok ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*). Stok ekstrak didapatkan dari penimbangan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) yang kemudian dilarutkan dengan DMSO₄. Jumlah stok ekstrak ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) harus melebihi dosis yang dibutuhkan. Berikut rumus perhitungan dosis yang diinginkan :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan :

V_1 = volume larutan yang di inginkan

N_1 = konsentrasi yang di inginkan

V_2 = volume larutan yang di cari

N_2 = konsentrasi stok ekstrak kasar

Perhitungan dosis ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.3.2 Uji *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minum suatu agen antimikroba yang terkandung dalam ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*. Pada uji MIC terdapat 8 tabung reaksi yang dipersiapkan dengan berisikan media TSB steril sebanyak 4 ml. Kemudian tiap tabung tersebut diberi isolat bakteri sebanyak 1 ose. Setelah itu dilakukan pemberian ekstrak kasar sebanyak 1 ml dengan dosis yang berbeda-beda, diantaranya adalah 50 ppt; 100ppt; 150 ppt; 200ppt; 250ppt; 300 ppt; serta tabung kontrol negatif dan positif yang berisikan ekstrak kasar murni. Semua tabung reaksi yang telah siap uji disimpan dalam inkubator selama 24 jam. Pengamatan MIC dilakukan dengan pengamatan kualitatif yakni dengan

melihat kekeruhan pada media uji. Selain itu di cari nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada tiap tabung uji.

3.3.3 Uji Cakram

Metode uji cakram dimaksudkan untuk mengetahui daya hambat antibakteri terhadap bakteri yang diujikan. Tahapan melakukan uji cakram adalah mempersiapkan media TCBSA sebagai media hidup bakteri uji, bakteri uji *V. parahaemolyticus* berkepadatan 10^7 , dan mempersiapkan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*).

Berikut tahapan pelaksanaan uji cakram untuk mengetahui efektivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji :

- Cawan petri yang telah berisikan media TCBSA disiapkan.
- Pengolesan *V. parahaemolyticus* berkepadatan 10^7 pada media TCBSA menggunakan *cotton swab* dengan metode zig zag. Pengolesan dilakukan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata.
- Kertas cakram diletakkan diatas media TCBSA. Kertas cakram sebelumnya telah direndam dalam ekstrak kasar teripang pasir dengan masing-masing dosis 250 ppt, 275 ppt, 300 ppt, 325 ppt selama 10-15 menit.
- Pengolesan isolat bakteri *V. parahaemolyticus* dan peletakan kertas cakram baik pada media maupun ekstrak harus dalam keadaan steril atau aseptis untuk menghindari terjadinya kontaminasi.
- Disimpan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 35°C .
- Daya hambat pertumbuhan bakteri dapat dilihat adanya zona bening disekitar kertas cakram. Pengukuran diameter zona bening dapat dilakukan menggunakan jangka sorong.

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini merupakan hasil dari daya hambat ekstrak teripang pasir terhadap laju pertumbuhan hidup bakteri *V. parahaemolyticus* yang ditandai dengan diameter zona bening disekitar kertas cakram yang telah ditumbuhi bakteri *V. parahaemolyticus*.

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah lamanya waktu perendaman kertas cakram dalam ekstrak teripang pasir (*H. scabra*).

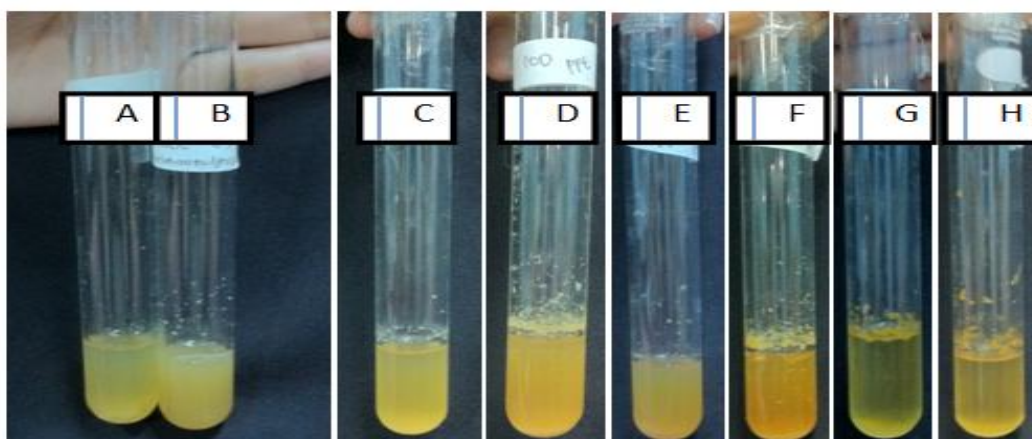
3.5 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian dilakukan dengan pengujian statistik menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila data sidik ragam memperlihatkan pengaruh berbeda nyata maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT). Kemudian dilanjutkan perhitungan polynomial orthogonal untuk mengetahui hubungan (regresi) antara perlakuan dengan nilai yang dihasilkan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*)

Uji *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) pada ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) sebagai antibakterial dalam berbagai konsentrasi (ppt) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum daya hambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*. Menurut Forbes et al. (2002) dalam Purnamasari et al. (2010), *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) adalah konsentrasi (presentase kandungan bahan dalam satu larutan) terendah dari sebuah antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah di inkubasi. Berdasarkan hasil pengamatan setelah 24 jam di inkubasi dapat terlihat perubahan warna bening pertama kali pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Pengamatan Uji MIC Secara Visual Setelah Masa Inkubasi 24Jam (A. Kontrol positif, B. Kontrol Negatif, C. 50ppt, D. 100ppt, E. 150ppt, F. 200ppt, G. 250ppt, H. 300ppt)

Hasil uji MIC dengan cara pengamatan perubahan warna pertama kali menunjukkan bahwa dosis 250 ppt sudah terlihat bening, sehingga

dapat disimpulkan dosis tersebut mulai dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*. Namun, keakuratan uji MIC juga dilihat dari tingkat absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Menurut Blanc dan Michel (2001), tingkat kekeruhan dari hasil pengamatan uji MIC secara visual sangatlah sulit untuk dibedakan sehingga diperlukan pengamatan lain menggunakan spektrofotometer. Berikut hasil dari uji MIC menggunakan spektrofotometer tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*) dengan Perlakuan Dosis Ekstrak Kasar Teripang Pasir yang Berbeda-beda.

No.	Konsentrasi (ppt)	Absorbansi	Warna
1.	300	1.533	Bening
2.	250	2.318	Bening
3.	200	2.328	Keruh
4.	150	2.429	Keruh
5.	100	2.439	Keruh
6.	50	2.471	Keruh
7.	Kontrol (-)	2.555	Keruh
8.	Kontrol (+)	1.347	Bening

Keterangan :

Perlakuan no. 1-6 : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media TSB dengan diberikan ekstrak kasar teripang (*H. scabra*) pasir sesuai dosis perlakuan.

Konsentrasi 250 ppt : Konsentrasi 250 ppt mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*.

Kontrol (-) : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media TSB tanpa diberikan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*).

Kontrol (+) : Bakteri *V. parahaemolyticus* ditanam pada media TSB dengan diberikan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) murni.

Hasil uji MIC menggunakan spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 517 nm menunjukkan bahwa nilai absorbansi pada konsentrasi 300 ppt mendekati nilai kontrol positif hal tersebut dapat dipastikan bahwa dosis tersebut efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*. Serta tidak menutup kemungkinan pada konsentrasi 250 ppt juga efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan pada saat pengamatan visual pertama kali setelah di inkubasi 24 jam media tampak bening. Menurut Tanjung

et al. (2008), semakin jernih larutan maka nilai OD juga semakin rendah hal ini disebabkan karena nilai OD yang terbaca spektrofotometer merupakan nilai banyaknya partikel ekstrak dan bakteri yang terserap oleh spektrofotometer.

4.2 Uji Cakram

Pada uji cakram diberikan perlakuan dosis terendah 250 ppt dan perlakuan dosis diatas 300 ppt berdasarkan dari hasil uji MIC maka didapatkan dosis sebagai berikut 250 ppt, 275 ppt, 300 ppt, dan 325 ppt. Berdasarkan hasil pengamatan diameter zona bening selama penelitian berlangsung, pada setiap cawan dengan dosis berbeda-beda memiliki diameter zona bening yang berbeda-beda pula. Hal ini disebabkan karena pemberian dosis yang berbeda-beda, apabila dosis yang diberikan semakin tinggi maka semakin tinggi aktivitas senyawa antibakteri sehingga diperoleh diameter zona bening yang semakin besar. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1986), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat. Hal ini dapat dikatakan bahwa diameter zona hambat berbanding lurus dengan tingkat konsentrasinya. Berikut data hasil pengamatan diameter zona bening pada uji cakram dari ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dengan perlakuan dosis 250 ppt, 275 ppt, 300 ppt, dan 325 ppt yang terpapar dalam Tabel 6 :

Tabel 6. Hasil Rata-rata Pengamatan Zona Bening Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*H.scabra*) pada Bakteri *V. parahaemolyticus*

Perlakuan	Zona Bening (mm)			Total (mm)	Rata-rata (mm)
	1	2	3		
A (250 ppt)	3.1	3.1	2.6	8.8	2.93
B (275 ppt)	4	3.15	3.3	10.45	3.48
C (300 ppt)	4.5	4.3	4.5	13.3	4.43
D (325 ppt)	6.15	6.1	6.8	19.05	6.35

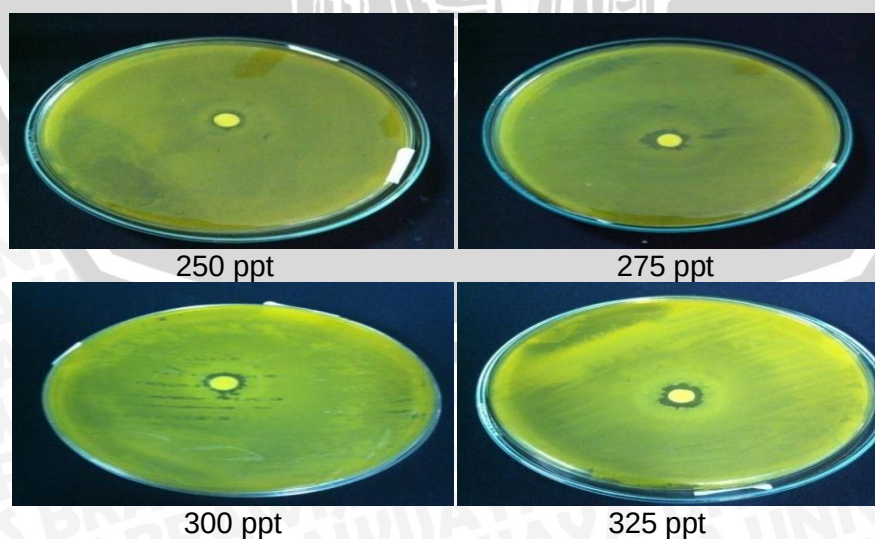
Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 6 mengenai respon hambat suatu antibakteri melalui metode uji cakram dapat diketahui bahwa respon hambat ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) terhadap pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* pada dosis 250 ppt, 275 ppt, dan 300 ppt bersifat lemah karena rata-rata dari ukuran diameter zona bening adalah kurang dari 5 mm. Sedangkan respon hambat ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* memiliki nilai rata-rata zona bening 6.35 mm yang berarti tergolong dalam kategori respon sedang. Hal ini telah diperjelas oleh Suryawiria (2005), menyatakan bahwa respon hambat suatu bahan aktif dapat dikelompokkan menjadi empat respon yang diantaranya tertera pada Tabel 7.

Tabel 7. Klasifikasi Respon Hambat

No.	Diameter Zona Bening (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
1.	< 5	Lemah
2.	5 – 10	Sedang
3.	10 – 19	Kuat
4.	> 20	Sangat Kuat

Sumber : Suryawiria (2005).

Berikut gambar pengamatan zona bening pada tiap-tiap perlakuan dosis ekstrak kasar teripang pasir yang berbeda tersaji pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Pengamatan Uji Cakram

Adapula gambar hasil uji cakram tiap dosis perlakuan beserta ulangnya tertera pada Lampiran 5. Setelah mengetahui rata-rata diameter zona bening atau daya hambat suatu antibakteri, langkah selanjutnya adalah mengetahui pengaruh dari perlakuan pemberian dosis yang berbeda dengan menghitung sidik ragam. Berikut hasil perhitungan sidik ragam zona bening yang dihasilkan dari pemberian ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) tertera pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Perhitungan Sidik Ragam Diameter Daya Hambat Bakteri *V. parahaemolyticus*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hit.	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	20.27	6.60722	59.3846**	4.07	7.59
Acak	8	0.91	0.11375			
Total	11	21.175				

Keterangan **) Berbeda sangat nyata

Pada hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata. Hal tersebut dikarenakan nilai dari F hitung (39,06) lebih besar dari F tabel 5% (4.07) dan F tabel 1% (7.59).

Selain mengetahui nilai sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari pemberian ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*), diperlukan juga nilai dari hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan pengaruh antara perlakuan. Berikut nilai uji Beda Nyata Terkecil (BNT) tertera pada Tabel 9.

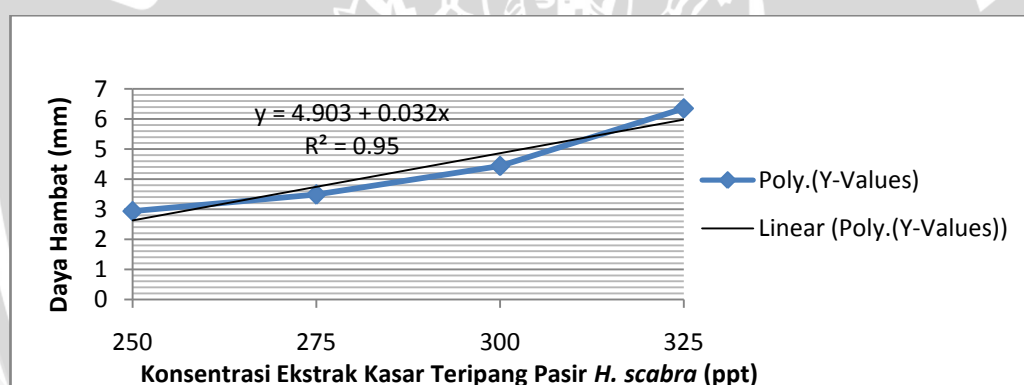
Tabel 9. Hasil Uji Beda Nyata (BNT) Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri *V. parahaemolyticus*

Rata-rata Perlakuan		A	B	C	D	Notasi
		2.93	3.48	4.43	6.35	
A.	2.93	-				a
B.	3.48	0.55 ^{ns}	-			a
C.	4.43	1.50**	0.95**	-		b
D.	6.35	3.42**	2.87**	1.92**	-	c

Keterangan : ^{ns}) tidak berbeda nyata ; **) sangat berbeda nyata

Terlihat pada Tabel 9 bahwa perlakuan A tidak memberikan nilai yang signifikan antara perlakuan sehingga diberi notasi a. Perlakuan B terhadap perlakuan A memberikan nilai yang tidak berbeda nyata sehingga diberi notasi a. Perlakuan C terhadap perlakuan A dan perlakuan B memberikan nilai yang sangat berbeda nyata sehingga diberi notasi b. Sedangkan perlakuan D juga memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, perlakuan B, dan perlakuan C sehingga diberi notasi c.

Selain itu diperlukannya mengetahui hubungan (regresi) antar perlakuan dengan daya hambat melalui perhitungan polynomial orthogonal (lampiran 6). Berikut grafik regresi diameter daya hambat yang dihasilkan dengan masing-masing perlakuan tertera pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan Pemberian Dosis Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) dengan Diameter Daya Hambat yang Dihasilkan

Berdasarkan Gambar 6 terlihat hubungan antara perlakuan peningkatan dosis ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dengan daya hambat yang dihasilkan menunjukkan pola linier dengan persamaan $y = 4.903 + 0.032x$ dan koefisien $R^2 = 0.95$. Hubungan antara pemberian ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dengan nilai dosis yang semakin meningkat dalam menghambat pertumbuhan *V. parahaemolyticus* memberikan respon daya hambat yang meningkat. Hal ini disebabkan pemberian dosis yang semakin tinggi maka

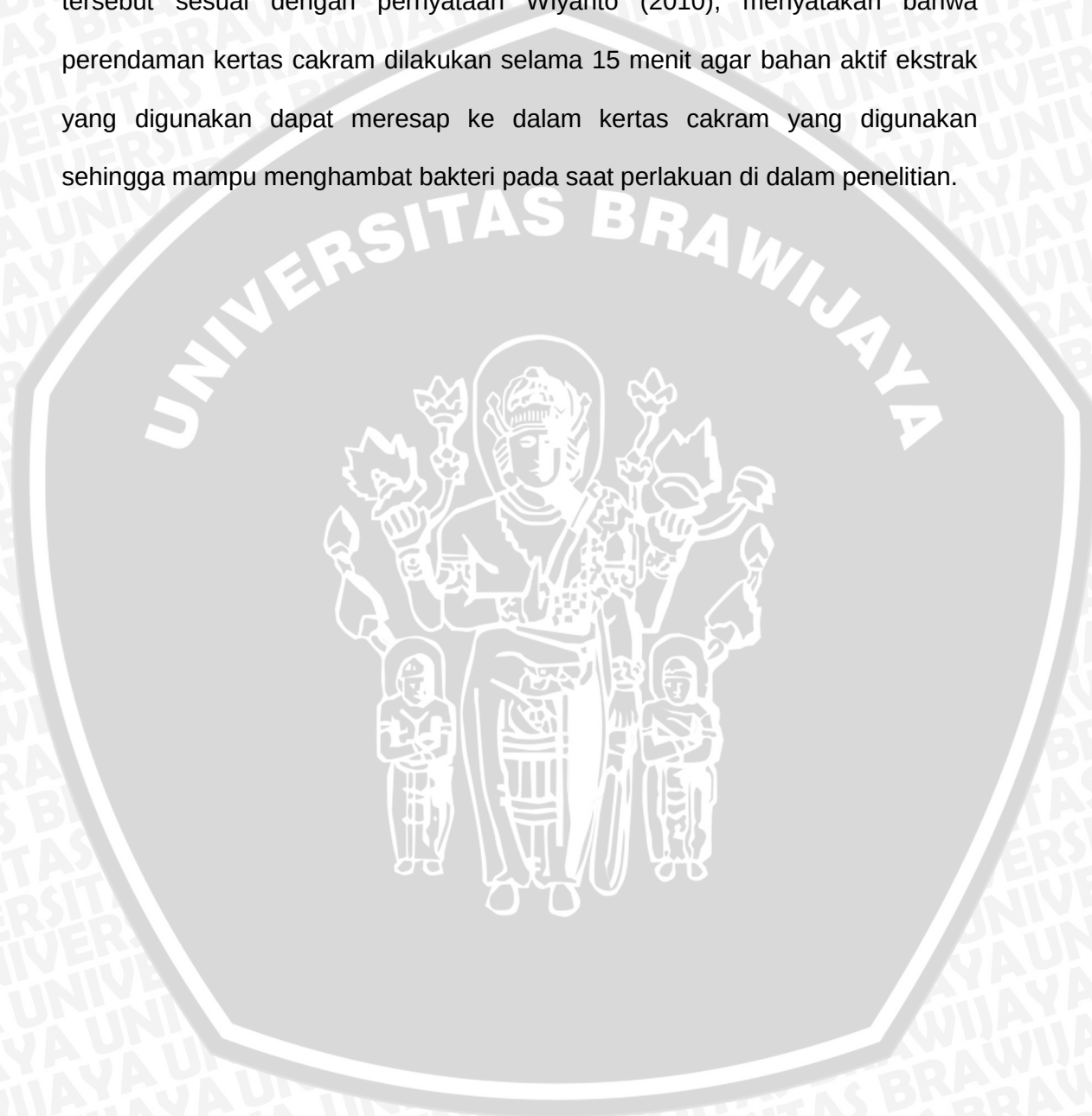
semakin tinggi aktivitas senyawa antibakteri sehingga diperoleh diameter zona bening yang semakin besar. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1986), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat. Hasil perhitungan uji statistik dapat dilihat pada Lampiran 6. Menurut Nimah *et al.* (2012), kandungan metabolit sekunder dari ekstrak *H. scabra* baik etil asetat (semi polar) maupun methanol (polar) yang dominan adalah saponin, steroid, dan triterpenoid. Golongan senyawa tersebut memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri hingga sel tersebut rusak. Sehingga semakin meningkatnya dosis yang diberikan maka daya hambat yang dihasilkan juga akan semakin tinggi. Perlu diketahui pula bahwa dinding sel bakteri gram negatif memiliki struktur yang lebih tipis dibandingkan dengan bakteri gram positif (Nendissa, 2012).

Pada hasil penelitian uji daya hambat antibakteri ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* menunjukkan bahwa antibakteri yang terkandung pada ekstrak teripang pasir adalah bersifat bakteriostatik. Hal tersebut sesuai dengan hasil tiap perlakuan dosis ekstrak kasar teripang pasir terhadap bakteri uji *V. parahaemolyticus* dalam masa inkubasi 48 jam yang menunjukkan bahwa diameter zona bening yang dihasilkan semakin kecil. Menurut Halim dan Zubaidah (2013), aktivitas antimikroba terhadap bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Bakteriostatik merupakan aktivitas antibakterial dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan bakteriosidal merupakan aktivitas antibakteri dalam membunuh bakteri (Pelczar dan Chan, 1986). Pada umumnya bakteri *Vibrio* memiliki sifat patogen yang sangat ganas. Menurut Ilmiah *et al* (2012), beberapa spesies bakteri seperti *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, dan *V. marinus* merupakan bakteri patogen yang bersifat sangat

ganas karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder. Kandungan bahan aktif yang mendominasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* adalah triterpen glikosida / saponin. Menurut Zhang *et al.* (2006) dalam Albuntana *et al.* (2011), senyawa metabolit dominan yang dihasilkan teripang berupa saponin. Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang kerangka dasarnya berhubungan dengan struktur gugus glukosa dan triterpenoid. Menurut Nuria *et al.* (2009), mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Pernyataan tersebut diperkuat oleh pernyataan Roihanah (2012), secara umum golongan Triterpenoid mampu merusak membran sel, mengnon-aktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan akibat penurunan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan ion-ion organik yang penting masuk ke dalam sel sehingga berakibat terhambatnya pertumbuhan bahkan hingga mematikan sel. Selain itu terkandung pula senyawa steroid yang juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa steroid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri (Siregar *et al.* 2012).

Parameter penunjang dari penelitian ini adalah lama waktu perendaman kertas cakram pada ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dengan dosis yang berbeda. Perendaman kertas cakram yang dilakukan selama 10-15 menit. Lama waktu perendaman tersebut dilakukan agar bahan aktif dapat meresap ke dalam kertas cakram dan mencegah adanya kerusakan pada kertas cakram akibat perendaman yang terlalu lama. Berdasarkan hasil penelitian yang sudah

dilakukan, lama perendaman kertas cakram memberikan pengaruh terhadap resapan bahan aktif ke dalam kertas cakram karena semakin lama perendaman maka semakin banyak pula bahan aktif yang meresap pada kertas cakram. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Wiyanto (2010), menyatakan bahwa perendaman kertas cakram dilakukan selama 15 menit agar bahan aktif ekstrak yang digunakan dapat meresap ke dalam kertas cakram yang digunakan sehingga mampu menghambat bakteri pada saat perlakuan di dalam penelitian.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

- Ekstrak kasar teripang pasir *H. scabra* mampu menghambat laju pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* secara bakteriostatik.
- Pada dosis 250 ppt ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) sudah mampu menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* dengan hasil rata-rata zona hambat sebesar 2.93 mm, sedangkan pada dosis tertinggi yaitu 325 ppt mampu menghambat bakteri *V. parahaemolyticus* dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 6.35 mm. Semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin tinggi pula daya hambat yang dihasilkan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan memanfaatkan ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) untuk menghambat bakteri *V. parahaemolyticus*, namun masih perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan dosis optimal ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Albuntana, A., Yasman, dan W. Wardhana. 2011. Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuriidae Dari Pulau Penjaliran Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 3(1) : 66-72.
- Alfath, C.R., V. Yulina, dan Sunnati. 2013. *Antibacterial Effect of Granati fructus Cortex Extract on Streptococcus mutans In Vitro*. *J. Dentistry Indonesia*. 20(1) : 5-8.
- Aras, T.R. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria scabra* Terhadap *Artemia salina*. SKRIPSI. Universitas Hasanuddin : Makassar. 83hlm.
- Blanc, G., and C. Michel. 2001. Minimum Inhibitory Concentration Methodologybin Aquaculture. *J. Aquaculture*. 196 : 311-318.
- Bordbar, S. F. Anwar, and N. Saari. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods. *Mar. Drugs*. 9 : 1761-1805.
- Dhinakaran, D.I., and A.P. Lipton. 2014. *Pharmacological Potentials of Sea Cucumber Holothuria Atra Extracts from the Indian Ocean*. *J. Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 4(35) : 36-43.
- Dias, L.P. 2003. Karakteristik Morfologi Dan Kurva Pertumbuhan *Bacillus brevis* Dan *Bacillus apiaries*. Skripsi. IPB : Bogor. 43hlm.
- Felix, F., T.T. Nugroho, S. Silalahi, dan Y. Octavia. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio* sp. Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Udang Berbasis Teknik 16S Ribosomal DNA. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 3(2) : 85-99.
- Fox, A. 2004. Bacteriology Chapter Eleven Enterobacteriaceae, *Vibrio*, *Campylobacter* And *Helicobacter*. University of South Carolina School of Medicine. <http://www.microbiologybook.org/fox/enterobact.htm>. diakses pada tanggal 25 Juli 2015.
- Halim, C., dan E. Zubaidah. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). *J. pangan dan Agroindustri*. 1(1) : 129-137
- Handayani, T., B.J. Tuasikal, I. Sugoro. 2006. LD₅₀ Sinar Gamma Pada *Streptococcus agalactiae* Untuk Bahan Vaksin Iradiasi Mastitis Pada Sapi Perah. *Risalah Seminar Ilmiah*. 189-192.
- Hardiningtyas, S.D. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton* sp. yang Difragmentasi Dan Tidak Difragmentasi Di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. Skripsi. IPB : Bogor. 56hlm.

- Hatmanti, A. 2003. Penyakit Bakterial Pada Budidaya Krustasea Serta Cara Penanganannya. *Oseana*. 27(3) : 1-10.
- Ibrahim, A., Y.T. Adiputra, A. Setyawan, dan S. Hudaidah. 2013. Potensi Ekstrak Kulit Buah Dan Biji Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Sebagai Senyawa Anti Bakteri Patogen Pada Ikan. *J. Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 1 (2) : 135-144.
- Ilmiah, Sukenda, Widanarni, dan E. Harris. 2012. Isolasi dan Karakterisasi *Vibrio* Patogen Pada Ikan Kerapu Macan *Epinephelus fuscoguttatus*. *J. Akuakultur Indonesia*. 11(1) : 28-37.
- Inayah, N., R. Ningsih, dan T.K. Adi. 2012. Uji Toksisitas Dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Dan N-Heksana Teripang Pasir (*H. scabra*) Kering Pantai Kenjeran Surabaya. *J. Alchemy*. 2(1) : 92-100.
- Indrarini, D., S.B. Prayitno, dan Sarjito. 2014. Agensi Penyebab Vibriosis Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Pada Kolam Bekas Tambak Udang. *J. Aquaculture Management and Technology*. 3(4) : 299-307.
- Kharisma, A., dan A. Manan. 2012. Kelimpahan Bakteri *Vibrio* sp. Pada Air Pembesaran Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Deteksi Dini Serangan Penyakit Vibriosis. *J. Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(2) : 129-134.
- Ghufran, M.H., dan Kordi K. 2007. Pemeliharaan Udang Vanname. Indah : Surabaya. 100hlm.
- Lasabuda, R. 2013. Pembangunan Wilayah Pesisir Dan Lautan Dalam Perspektif Negara Kepulauan Republik Indonesia. *J. Ilmiah Platax*. 1(2) : 92-101.
- Lesmana, M. 2006. *Vibrio & Campylobacter*. Universitas Trisakti : Jakarta. 80hlm.
- Marliana, E., dan C. Saleh. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Dari Buah Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl). *J. Kimia Mulawarman*. 8(2) : 63-69.
- Melki, D. Soedharma, H. Effendi, dan A.Z. Mustopa. 2011. Biopotensi Tumbuhan Mangrove untuk Pencegahan Penyakit Vibriosis pada Udang Windu. *J. Maspari*. 2(1) : 39-47.
- Mulyadi, M., Wuryanti, P. Ria S. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-alang (*Imperata cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Chem info*. 1(1) : 35-42.
- Molitoris, E., S.W. Joseph, M.I. Krichevsky, W. Sindhuhardja, dan R.R. Colwell. 1985. Characterization and Distribution of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* Isolated in Indonesia. *Applied And Enviromental Microbiology*. 50(6) : 1388-1394.

- Nasution, S. 2012. Metode Research : Penelitian Ilmiah. Bumi Aksara : Jakarta. 156hlm.
- Nendissa, D.M. 2012. Analisa Kemampuan Alga Hijau Sillpau (*Dictyosphaeria versluysii*) Sebagai Antibakteri. *J. Ekosains*. 1(1) : 47- 52.
- Nimah, S., W.F. Ma'ruf, A. Trianto. 2012. Uji Bioaktivitas Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dan *Bacillus cereus*. *J. Perikanan*. 1(2) : 1-9.
- Nuria, M.C., A. Faizatun, dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escheria coli* ATCC 25922, Dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *J. Mediargo*. 5(2) : 26-37.
- Nursidika, P., O. Saptarini, dan N. Rafiqua. 2014. Aktivitas Antimikrob Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (*Areca catechu* L) pada Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *MKB*. 46(2) : 94-99.
- Noverita, D. Fitria, dan E. Sinaga. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun Dan Rimpang *Zingiber ottensii* Val. *J. Farmasi Indonesia*. 4(4) : 171-176.
- Novia, H. Yuliyati, R. Yuliandhika. 2009. Pemanfaatan Biji Karet Sebagai Semi Drying Oil Dengan Metode Ekstraksi Menggunakan Pelarut N-Heksana. *J. Teknik Kimia*. 4(16) : 1-10.
- Pelczar Jr, M.J., dan E.C.S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI-Press : Jakarta. 443hlm.
- Pranoto, E.N., W.F. Ma'ruf, D. Pringgenies. 2012. Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *J. Perikanan*. 1(2) : 1-8.
- Pratama, N.P., S.B. Prayitno, dan Sarjito. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) untuk Penanggulangan Penyakit Bakteri (*Vibrio harveyi*) Pada Udang Windu. *J. Aquaculture Management and Technology*. 3(4) : 281-288.
- Prihatman, K. 2000. Budidaya Udang Windu (*Palaemonidae* / *Penaeidae*). Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi : Jakarta. 22 hlm.
- Purnamasari, D.A., E. Munadzirah, dan R.M. Yogiartono. 2010. Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao Sebagai Material Alam Dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *J. PDGI*. 50(1) : 14-18.
- Putra, A.A.B., N.W. Bogoriani, N.P Diantariani, dan N.L.U. Sumadewi. 2014. Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks, Dan Sokletasi. *J. Kimia*. 8(1) : 113-119.

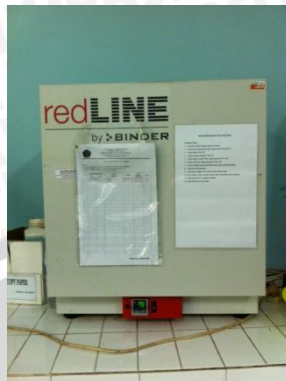
- Qadri, F., N.R. Chowdhury, Y. Takeda, dan G.B. Nair. 2005. *Vibrio parahaemolyticus*-Seafood Safety and Associations with Higher Organism. *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. 277-295.
- Rasyid, A. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus hermannii*. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 4(2) : 360-368.
- Riani, E., Sudrajat A.O., dan Triajie, H. 2010. Efektivitas Ekstrak Teripang Pasir Yang Telah Diformulasikan Terhadap Maskulinasi Udang Galah. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. 12(3) : 142-152.
- Roihanah, S., S. Sukoso, dan S. Andayani. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In vitro*. *J. Exp. Life Sci*. 2(1) : 1-5.
- Rustam. 2006. Pelatihan Budidaya Laut (Coremap Fase II Kab. Selayar). Yayasan Mattirotasi : Makassar. 11hlm.
- Sari, E.M., W.F. Maruf, dan Sumardianto. 2014. Kajian Senyawa Bioaktif Ekstrak Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) Basah Dan Kering Sebagai Antibakteri Alami. *J. Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(4) : 16-24.
- Sendih, S., dan Gunawan. 2006. Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab dari Laut. Agromedia Pustaka : Jakarta. 64hlm.
- Septiana, A.T., dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut Dan Metode Ekstraksi. *Agrointek*. 6(1) : 22-28.
- Siregar, A.F., A. Sabdono, dan D. Pringgenis. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Micrococcus luteus*. *J. Marine Research*. 1(2) : 152-160.
- Suada, IKetut. 2012. Keragaman Aktivitas Antifungi Biota Laut Terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*, Penyebab Busuk Batang Vanili. *J. Bumi Lestari*. 12(1) : 66-70.
- Sumino, A. Supriyadi, dan Wardiyanto. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia cattapa* L.) untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Patin (*Pangasioniodon hypophthalmus*). *J. Sain Veteriner*. 31(1) : 79-88.
- Shimura J., Hiraki K. & Garrity G.M. 2006. BIOS: Bacteriology Insight Orienting System (version Dec 2006). In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life. Digital resource at www.catalogueoflife.org/col/.

- Sudrajat, Y. 2002. Teknik Penghilangan Lapisan Kapur Pada Teripang Pasir Menggunakan Enzim Papain. *Buletin Teknik Petanian*. 7(2) : 41-43.
- Suhermanto,A., S. Andayani, dan Maftuch. 2013. Pengaruh Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Respon Imun Non Spesifikasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *J. Bumi Lestari*. 13(2) : 225-233.
- Surachmad, W. 1978. Dasar Dan Tehnik Research : Pengantar Metodologi Ilmiah. CV. Tarsito : Bandung. 329hlm.
- Tanjung, N.K., Sudarno, dan L. Sulmartiwi. 2008. Efektivitas Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limonum*) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. *J. Berkala Ilmiah Perikanan*. 3(1) : 89-93.
- Tanujaya, B. 2013. Penelitian Percobaan. PT. Remaja Rosdakarya : Bandung. 206hlm.
- Trianto, A., E. Wibowo, Suryono, dan R. Sapta S. 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* Sebagai Antibakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Ilmu Kelautan*. 9(4) : 186-189.
- Wardhani, L.K., dan N. Sulistyani. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* L.) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *J. Ilmiah Kefarmasian*. 2(1) : 1-16.
- Widanarni, D. Wahyuningrum, dan F. Puspita. 2012. Aplikasi Bakteri Probiotik Buatan Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Udang Windu *Penaeus monodon*. *J. Sains Terapan*. 2(1) : 32-49.
- Wiyanto,D,B. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii* dan *Eucheuma Denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dan *Vibrio harveyii*. *J. Kelautan*. 3(1): 1-17.
- Yusron, E. 2004. Sumberdaya Teripang Di perairan Tanjung Pai Padaido Biak Numfor Papua. *J. Sains*. 8(3) : 123-127.

Lampiran 1. Alat Penelitian



Autoclave



Inkubator



Kulkas



Rotari Vacum Evaporator



Timbangan Digital



Hot Plate



Rak Tabung Reaksi

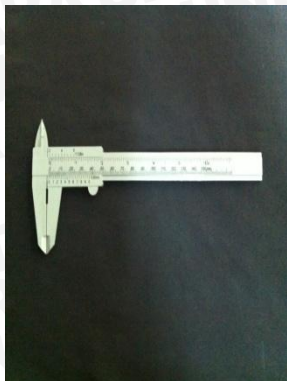


Cawan Petri



Bunsen

Lampiran 1. (Lanjutan)



Jangka Sorong



Erlenmeyer



Tabung Reaksi



Pinset



Spatula



Jarum Ose



Gelas Ukur



Vortex Mixer



Spektrofotometer



Mikropipet 100-1000 μ



Beakerglass

Lampiran 2. Pembuatan Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*H. scabra*)



Persiapan Teripang Pasir (*H. scabra*)



Dibersihkan



Dijemur



Diuapkan



Disaring



Direndam etanaol 96%



Ekstrak Kasar *H. scabra*

Lampiran 3. Identifikasi Bakteri *V. parahaemolyticus*

KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
BADAN KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN
BALAI KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU
DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN KELAS II SEMARANG

Jl. Ampena No. 4 Tanjung Emas Telp./Fax: (024) 3541769 Semarang 50129, email: semarang@bkupm.kkp.go.id

SURAT KETERANGAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Titis Candra Dewi, S.Pi. M.Si
NIP : 19760411 200502 2 001
Jabatan : Deputi Manajer Teknis
Nama Instansi : Balai KIPM Kelas II Semarang
Alamat : Jl. Ampenan No 4 Pelabuhan Tanjung Emas Semarang

Dengan ini menyatakan bahwa isolat dengan data-data sebagai berikut :

Nama Barang : Isolat *Vibrio parahaemolyticus*
Jumlah Barang : 1 Buah
No Isolat/Kode Isolat : parahemolyticus 12/3

Adalah benar milik Laboratorium Penguji Mikrobiologi Balai KIPM Kelas II Semarang, isolate tersebut adalah turunan ke 5 dari ATCC no 17802 dan telah dilakukan verifikasi ulang terhadap kebenaran isi dari isolate tersebut sesuai dengan lampiran yang ada.

Demikian surat keterangan ini kami buat dengan sebenar-benarnya dan dapat dipertanggungjawabkan

Semarang, 13 Maret 2015

Deputi Manajer Teknis



Titis Candra Dewi, S.Pi. M.Si

Catatan : komplain diterima sampai 1 minggu setelah barang diterima

Lampiran 3. (Lanjutan)

HASIL UJI BIOKIMIA

Nama isolat : *Vibrio parahaemolyticus* 12/3
Tanggal Pengujian : 10-03-2015 s/d 12-03-2015

No	Parameter Pengujian	SNI 01-2332.5-2006	Hasil Uji
1	Morfologi	Gram negative bentuk batang atau batang melengkung	Gram negative bentuk batang pendek
2	TSIA	Agar miring alkalin agar tegak asam	Agar miring alkalin agar tegak asam, Gas -, H ₂ S-
3	OF	Fermentatif	Fermentatif
4	Oksidase	Positif	Positif
5	Arginin	Negatif	Negatif
6	LIA	Positif	Positif
7	VP	Negatif	Negatif
8	Pertumbuhan suhu 42°C	Positif	Positif
9	Halophilik		Tidak dilakukan
10	Fermentasi sukrosa	Negatif	Negatif
11	ONPG	Negatif	Negatif
12	Fermentasi arabinosa	Negatif	Negatif
13	Sensitivitas 0/129	Resisten (R) terhadap 10µg Sensitif (S) terhadap 150µg	Sensitif (S) terhadap 150µg
No	Parameter Pengujian	Austin, D.A and B. Austin	Hasil Uji
14	Katalase	Positif	Positif
15	Indol	Negatif	Negatif
16	Ornithin	Positif	Positif
17	Esculin	Negatif	Negatif
18	Urea	Positif	Positif
19	MR	Negatif	Negatif
20	Motility (semi solid)	Motil	Motil
21	TSA 0%	Negatif	Negatif
22	TCBS	Green	Green
23	Glukosa	Positif	Positif
24	Sukrosa	Negatif	Negatif
25	Laktosa	Negatif	Negatif
HASIL IDENTIFIKASI			Positif (+) <i>Vibrio parahaemolyticus</i>

Mengetahui
Kepala Laboratorium
Depdiknas
Titis Cahaya Dewi, S.Pi.M.Si

Analisis Pengujian
Nurul Hidayati

Lampiran 4. Pembuatan Dosis Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*H. scabra*) Pada Uji MIC dan Uji Cakram.

a. Uji MIC

Pada uji MIC dosis yang akan digunakan adalah 50 ppt, 100 ppt, 150 ppt, 200 ppt, 250 ppt, dan 300 ppt. Tahapan awal pada pembuatan dosis adalah pembuatan stok ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*).

- Stok ekstrak kasar = 1000 ppt

$$1000 = \frac{x \text{ gram}}{8 \text{ ml} \times 0.008 \text{ l}}$$

$$x = 1000 \times 0.008 \text{ l}$$

$$x = 8 \text{ gram}$$
 maka 8 gram ekstrak kasar teripang pasir dilarutkan ke dalam 8 ml DMSO₄ 10%.

Dilanjutkan perhitungan dosis, sebagai berikut.:

- Dosis 50 ppt

$$\begin{array}{lcl} V_1 & \times & N_1 \\ 1 & \times & 50 \\ & 50 & \\ & 0.05 \text{ ml} & \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & \end{array} = \begin{array}{lcl} V_2 & \times & N_2 \\ & \times & 1000 \\ & \times & \\ & 1000x & \\ & \times & \\ & \times & \\ & 1 - 0.05 \text{ ml} & \\ & = 0.95 \text{ ml} & \end{array}$$
- Dosis 100 ppt

$$\begin{array}{lcl} V_1 & \times & N_1 \\ 1 & \times & 100 \\ & 100 & \\ & 0.1 \text{ ml} & \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & \end{array} = \begin{array}{lcl} V_2 & \times & N_2 \\ & \times & 1000 \\ & \times & \\ & 1000x & \\ & \times & \\ & \times & \\ & 1 - 0.1 \text{ ml} & \\ & = 0.9 \text{ ml} & \end{array}$$
- Dosis 150 ppt

$$\begin{array}{lcl} V_1 & \times & N_1 \\ 1 & \times & 150 \\ & 150 & \\ & 0.15 \text{ ml} & \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & \end{array} = \begin{array}{lcl} V_2 & \times & N_2 \\ & \times & 1000 \\ & \times & \\ & 1000x & \\ & \times & \\ & \times & \\ & 1 - 0.15 \text{ ml} & \\ & = 0.85 \text{ ml} & \end{array}$$
- Dosis 200 ppt

$$\begin{array}{lcl} V_1 & \times & N_1 \\ 1 & \times & 200 \\ & 200 & \\ & 0.2 \text{ ml} & \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & \end{array} = \begin{array}{lcl} V_2 & \times & N_2 \\ & \times & 1000 \\ & \times & \\ & 1000x & \\ & \times & \\ & \times & \\ & 1 - 0.2 \text{ ml} & \\ & = 0.8 \text{ ml} & \end{array}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

- Dosis 250 ppt

$$\begin{array}{lclcl} V_1 & x & N_1 & = & V_2 \quad x \quad N_2 \\ 1 & x & 250 & = & x \quad x \quad 1000 \\ & & 250 & = & 1000x \\ & & 0.25 \text{ ml} & = & x \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & & = & 1 - 0.25 \text{ ml} \\ & & & = & 0.75 \text{ ml} \end{array}$$
- Dosis 300 ppt

$$\begin{array}{lclcl} V_1 & x & N_1 & = & V_2 \quad x \quad N_2 \\ 1 & x & 300 & = & x \quad x \quad 1000 \\ & & 300 & = & 1000x \\ & & 0.3 \text{ ml} & = & x \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & & = & 1 - 0.3 \text{ ml} \\ & & & = & 0.7 \text{ ml} \end{array}$$

b. Uji Cakram

Pada uji Cakram dosis yang akan digunakan adalah 250 ppt, 275 ppt, 300 ppt, dan 325 ppt. Tahapan awal pada pembuatan dosis adalah pembuatan stok ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*).

- Stok ekstrak kasar = 1000 ppt

$$\begin{array}{l} 1000 = \frac{x \text{ gram}}{0.008 \text{ l}} \\ x = 1000 \times 0.008 \text{ l} \\ x = 8 \text{ gram} \end{array}$$
 maka 8 gram ekstrak kasar teripang pasir dilarutkan kedalam 8 ml DMSO₄ 10%.

Dilanjutkan perhitungan dosis, sebagai berikut.:

- Dosis 250 ppt

$$\begin{array}{lclcl} V_1 & x & N_1 & = & V_2 \quad x \quad N_2 \\ 2 & x & 250 & = & x \quad x \quad 1000 \\ & & 500 & = & 1000x \\ & & 0.5 \text{ ml} & = & x \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & & = & 2 - 0.5 \text{ ml} \\ & & & = & 1.5 \text{ ml} \end{array}$$
- Dosis 275 ppt

$$\begin{array}{lclcl} V_1 & x & N_1 & = & V_2 \quad x \quad N_2 \\ 2 & x & 275 & = & x \quad x \quad 1000 \\ & & 550 & = & 1000x \\ & & 0.55 \text{ ml} & = & x \\ \text{DMSO}_4 \text{ 10\%} & & & = & 2 - 0.55 \text{ ml} \\ & & & = & 1.45 \text{ ml} \end{array}$$
- Dosis 300 ppt

$$\begin{array}{lclcl} V_1 & x & N_1 & = & V_2 \quad x \quad N_2 \\ 2 & x & 300 & = & x \quad x \quad 1000 \end{array}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

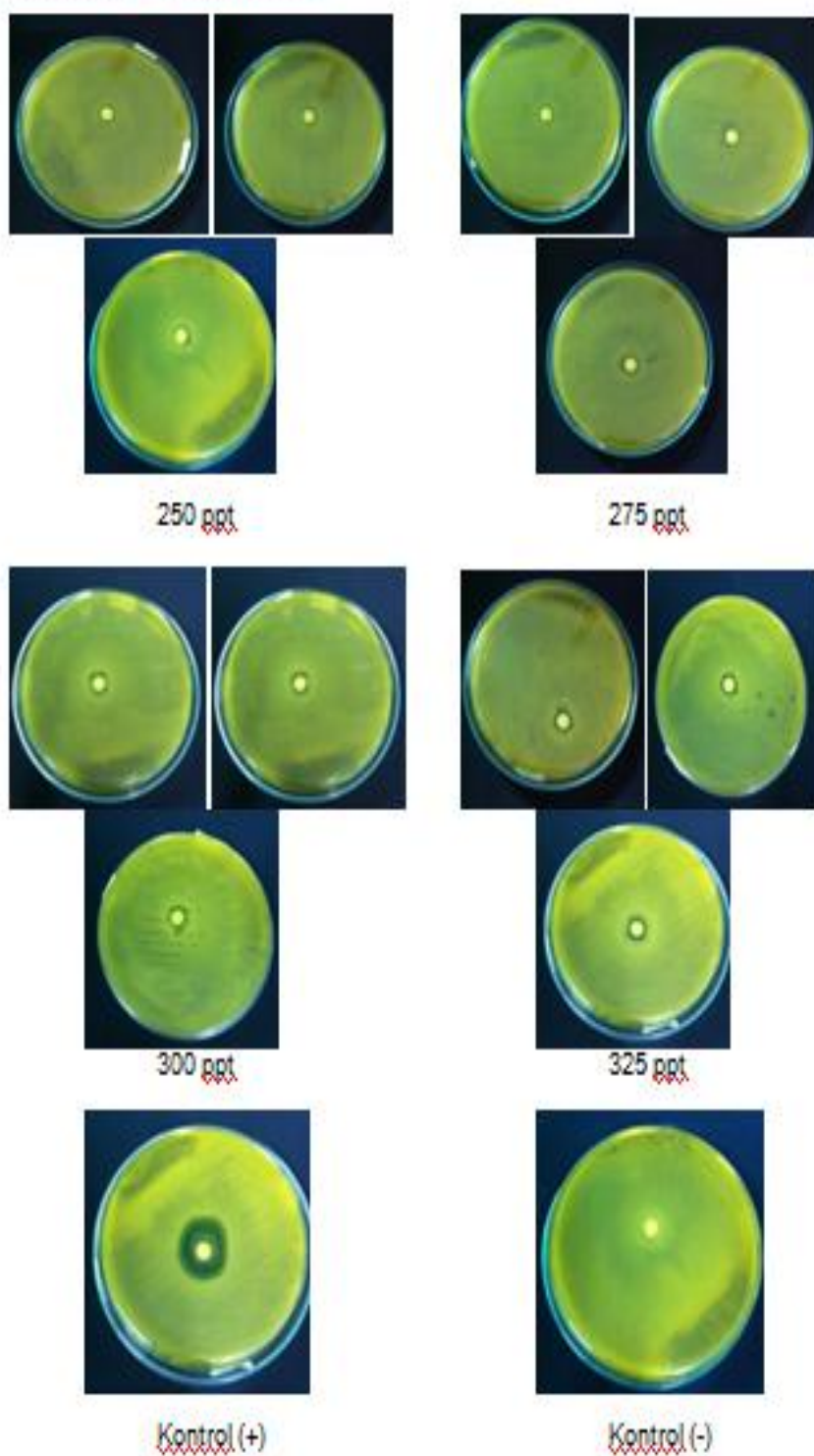
$$\begin{aligned} 600 &= 1000x \\ 0.6 \text{ ml} &= x \\ \text{DMSO, 10\%} &= 2 - 0.6 \text{ ml} \\ &= 1.4 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Dosis 325 ppt

V_1	x	N_1	$=$	V_2	x	N_2
2	x	325	$=$	x	x	1000
	650		$=$	$1000x$		
	0.65 ml		$=$	x		
	DMSO, 10%		$=$	$2 - 0.65 \text{ ml}$		
			$=$	1.35 ml		



Lampiran 5. Hasil Uji Cakram



Lampiran 6. Perhitungan Statistik Zona Bering Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Teripang Pasisir (*H. scabra*)

Perlakuan	Zona Bering (mm)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A (250 ppt)	3.1	3.1	2.6	8.8	2.9333
B (275 ppt)	4	3.15	3.3	10.45	3.4833
C (300 ppt)	4.5	4.3	4.5	13.3	4.4333
D (325 ppt)	6.15	6.1	6.8	19.05	6.35
				51.6	

• Perhitungan

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{51.6^2}{4} = 221.88 \\
 JK \text{ Total} &= A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2 - FK = 21.175 \\
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(2.4^2 + 3.2^2 + 3.2^2 + 3.2^2)}{4} = 20.265 \\
 JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} = 0.91
 \end{aligned}$$

• Analisa Keragaman

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	20.265	6.755	59.3846	4.07	7.59
Acak	8	0.91	0.11375			
Total	11	21.175				

• Uji BNT

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{KT \text{ acak}}{n}} = 0.275378527 \\
 BNT 5\% &= t_{\text{tabel } 5\%} \times SED = 0.636124398 \\
 BNT 1\% &= t_{\text{tabel } 1\%} \times SED = 0.925271852
 \end{aligned}$$

• Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	A	B	C	D	Notasi
	2.93	3.48	4.43	6.35	
A. 2.93	-				a
B. 3.48	0.55**	-			a
C. 4.43	1.50**	0.95**	-		b
D. 6.35	3.42**	2.87**	1.92**	-	c

Keterangan: **) sangat berbeda nyata

Lampiran 6. (Lanjutan)

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	8.8	-3	1	-1
B	10.45	-1	-1	3
C	13.3	1	-1	-3
D	19.05	3	1	1
$Q = \sum C_i^2 T_i$		33.6	4.1	1.7
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum C_i^2)^{-1} r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		18.816	1.40083	0.0482

JK Regresi 20.265

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	20.27			4.07	7.59
Linear	1	18.82	18.82	165.42		
Kuadratik	1	1.40	1.40	12.32		
Kubik	1	0.05	0.05	0.42		
Acak	8	0.91	0.11			
Total	11					

$$R^2 \text{ Linier} = JK \text{ Linier} / (JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}) = 0.95$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = JK \text{ Kuadratik} / (JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}) = 0.61$$

$$R^2 \text{ Kubik} = JK \text{ Kubik} / (JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}) = 0.05$$

Nilai regresi linier lebih besar dari nilai regresi kuadratik, dan regresi kubik sehingga grafik yang dibuat adalah grafik linier.

