

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SITOTOKSIK LENDIR
SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE ISOLASI
SENTRIFUGASI**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERAIRAN DAN KELAUTAN**

Oleh:

**RIA UTARI
NIM. 115080607111005**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SITOTOKSIK LENDIR
SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE ISOLASI
SENTRIFUGASI**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERAIRAN DAN KELAUTAN**

Oleh:

**RIA UTARI
NIM. 115080607111005**



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

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SITOTOKSIK LENDIR
SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE ISOLASI
SENTRIFUGASI

Oleh:

RIA UTARI

NIM. 115080607111005

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 1 Juli 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
Tanggal :

Dosen Penguji I

(Feni Iranawati, S.Pi, M.Si, Ph.D)
NIP. 197408122003122001

Tanggal :

Dosen Penguji II

(Dwi Candra Pratiwi, S.Pi, M.Sc)
NIP. 86011508120318

Tanggal :

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ade Yamindago, S.Kel, M.Sc)
NIP. 19840521 200801 1 002

Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan PSPK

(Dr. Ir. Daduk Setyohadi, M.P)
NIP. 196306080 198703 1 003

Tanggal :



PERNYATAAN ORISINALITAS

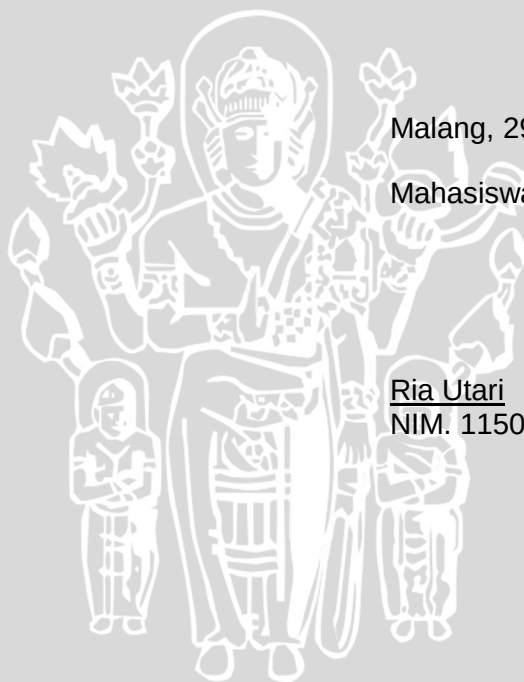
Laporan Penelitian Skripsi yang telah tersusun ini, merupakan hasil karya saya sendiri. Beberapa literatur pendukung sebagai acuan pengerjaan penelitian yang saya lakukan dan referensi pendukung lainnya telah saya olah sedemikian rupa sehingga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, melainkan semua yang tertulis dalam Laporan penelitian Skripsi ini telah disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan orisinalitas yang saya buat ini dapat dipertanggung jawabkan. Apabila dikemudian hari terbukti atau dibuktikan Laporan Penelitian Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 29 Juni 2015

Mahasiswa

Ria Utari
NIM. 115080607111005



UCAPAN TERIMAKASIH

Proses penyelesaian Laporan Penelitian Skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Penulis menghaturkan rasa syukur yang sebesar besarnya Kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga laporan ini dapat terselesaikan dengan baik dan mengucapkan terimakasih kepada :

1. Kedua orangtua saya terutama Papah saya yang selalu berjuang dan berdoa demi kesuksesan anaknya.
2. Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku dosen pembimbing satu yang telah memberikan arahan dan masukan selama proses penelitian hingga penyusunan Laporan Penelitian Skripsi.
3. Bapak Ade Yamindago, S.Kel, M.Sc selaku dosen pembimbing dua yang telah memberikan arahan dan masukan selama proses penelitian hingga penyusunan Laporan Penelitian Skripsi.
4. Mbak Vita selaku Laboran Bioteknologi Pangan, Fakultas Teknologi Hasil Pertanian yang setia memberikan arahan dan masukan dari setiap proses pengerjaan laboratorium khususnya dalam tahap uji antibakteri.
5. Sahabat setia, "duo maut" yang tak terpisahkan Dwias Wuri Miranti, yang senantiasa memberikan doa dan semangat selama proses penelitian hingga penyusunan laporan.
6. Rizki yang selalu memberikan semangat dan nasihat agar laporan cepat diselesaikan.
7. Teman-teman grup *Mr. Ade's Children* : Lilo LA Wahyuni dan Eri Sahabudin yang selalu memberi masukan dan waktu *sharing* berempat sehingga kolaborasi yang baik dapat tercipta.

Malang, 29 Juni 2015

Penulis

RINGKASAN

RIA UTARI. Uji Aktivitas Antibakteri dan Sitotoksik Lendir Siput Bakau (*Terebralia sulcata*) dengan Metode Isolasi Sentrifugasi (dibawah bimbingan **Dr. Ir. M. Firdaus, MP** dan **Ade Yamindago, S.Kel, M.Sc**)

Pemanfaatan bahan alam sebagai bahan obat tradisional baik itu untuk antibakteri maupun antikanker terus meningkat. Hal tersebut untuk menggantikan obat sintesis yang memiliki efek samping bagi tubuh. Menurut Ali *et al.* (2006) bahan alam dari laut memiliki kemampuan bioaktivitas yang dapat digunakan sebagai antivirus, antibiotik, antifungi, antibakteri, antiinflamasi dan antikanker. Salah satunya adalah jenis gastropoda *Terebralia sulcata*, pada lendir *Terebralia sulcata* memiliki potensi sebagai agen obat alami, menurut Nurjanah *et al.* (2011) Senyawa bioaktif pada lendir gastropoda diidentifikasi sebagai peptida, depsipeptida, seskuiterpen, skualen, terpen, alkaloid, polipropionat, senyawa nitrogen, makrolida, prostaglandin, turunan asam lemak. Senyawa tersebut diidentifikasi dapat digunakan sebagai antibakteri maupun antikanker. Isolasi peptida antibakteri maupun antikanker lendir *Terebralia sulcata* dapat dilakukan dengan metode sentrifugasi. Sentrifugasi merupakan salah satu metode isolasi peptida yang efektif dan sederhana.

Tahapan yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan antibakteri dan sitotoksik lendir *Terebralia sulcata* yang diisolasi dengan metode sentrifugasi meliputi tahap preparasi sampel. Kemudian tahap isolasi peptida pada lendir *Terebralia sulcata* dengan metode sentrifugasi. Proses sentrifugasi dilakukan dengan menggunakan beberapa variasi kecepatan putaran untuk mengetahui kecepatan optimum yang dapat menghasilkan isolat dengan kandungan peptida yang stabil dan murni. Selanjutnya adalah tahap uji antibakteri. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan dua bakteri uji, yaitu bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Tahapan selanjutnya adalah uji sitotoksik. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang *Artemia salina*. Analisis uji antibakteri dilakukan dengan melakukan penghitungan diameter zona bening yang terbentuk dan analisis uji sitotoksik dilakukan dengan melakukan perhitungan nilai LC_{50} . Tahapan terakhir adalah uji Elektroforesis dengan metode SDS-PAGE (*Sodium dodecyl polyacrilamide gel electrophoresis*), uji elektroforesis dilakukan untuk mendapatkan pita dominan dengan berat molekul tertentu, analisis hasil uji elektroforesis dilakukan dengan cara menghitung nilai R_f (*Retardation factor*) untuk mendapatkan nilai atau berat peptida yang diinginkan

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa isolat peptida yang terkandung pada lendir *Terebralia sulcata* belum mampu melakukan penghambatan pada kedua bakteri uji. Penghambatan optimum pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada sampel isolat 18.000 g dengan hasil diameter zona bening sebesar 1,06 mm. Penghambatan optimum pada bakteri uji *Escherichia coli* ditunjukkan pada sampel isolat 15.000 g. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa pada ketiga sampel isolat peptida lendir *Terebralia sulcata* memiliki potensi sebagai agen sitotoksik dengan nilai LC_{50} yang dihasilkan kurang dari 30 ppm. Hasil yang didapatkan ini sesuai dengan hasil uji elektroforesis yang menunjukan adanya band dominan dengan berat 24,8 kDa yang berpotensi aktif sitotoksik. Hasil ini dapat dikembangkan untuk keperluan medis sebagai agen obat kanker alami.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur saya panjatkan kepada Tuhan YME, karena berkat dan rahmatnya, Laporan Penelitian Skripsi dengan Judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN SITOTOKSIK LENDIR SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) DENGAN METODE ISOLASI SENTRIFUGASI ”** ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Laporan Skripsi ini disusun sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Kelautan dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

Laporan Skripsi ini harapannya dapat dijadikan pegangan belajar mengenai dunia pendidikan, sekaligus menambah pengetahuan bagi pembaca terutama untuk mempelajari tentang bahan aktif yang terdapat pada lendir gastropoda. Sehingga diharapkan penelitian ini dapat dilanjutkan oleh peneliti lain.

Penulis menyadari bahwa dalam Laporan Skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat menyempurnakan Laporan Skripsi ini dan melaksanakan perbaikan di masa yang akan datang. Semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan bagi dunia pendidikan serta ilmu pengetahuan.

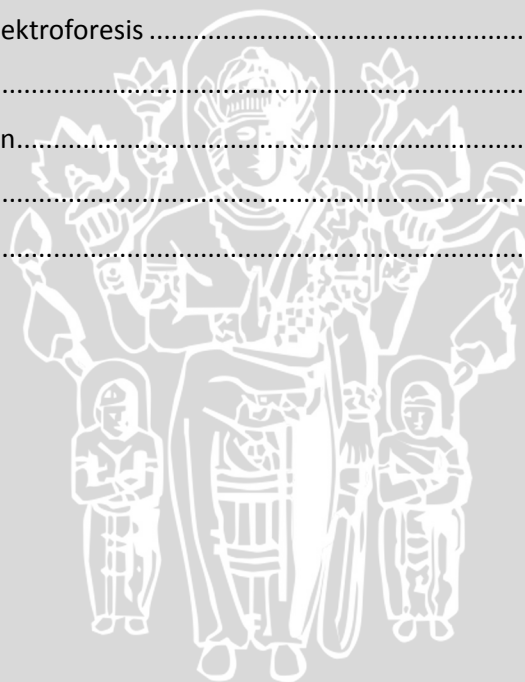
Malang, 29 Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

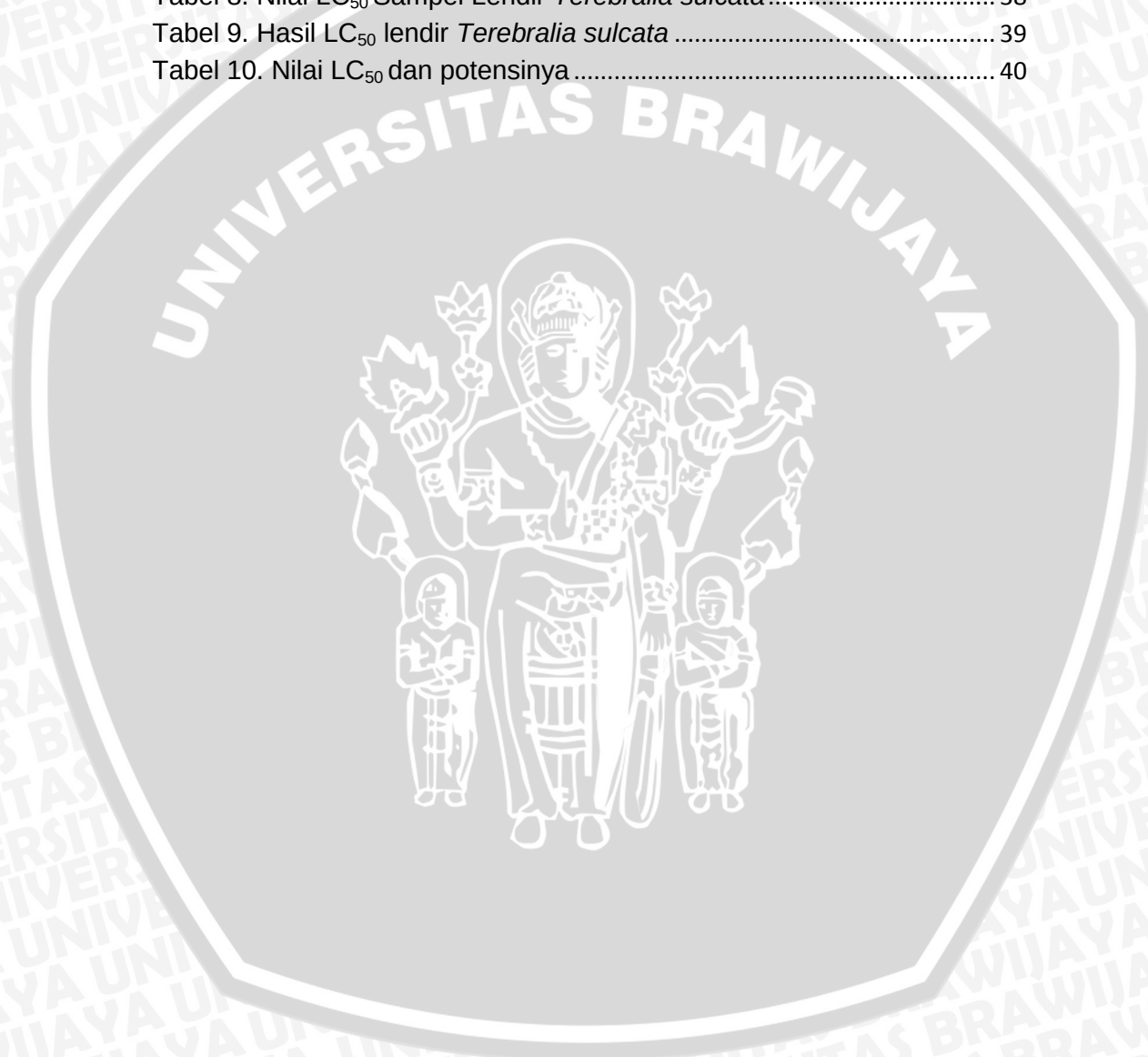
PERNYATAAN ORISINALITAS	i
UCAPAN TERIMAKASIH	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Kegunaan	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Deskripsi dan Klasifikasi <i>Terebralia sulcata</i>	6
2.2 Peptida Antimikroba	7
2.3 Antibakteri dan Fungsinya	8
2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.3.2 <i>Escherichia coli</i>	10
2.4 Sitotoksik dan Fungsinya	11
2.5 Lethal Concentration 50% (LC ₅₀)	12
3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat	14
3.2 Keadaan Umum Lokasi Pengambilan Sampel	14
3.3 Kondisi Perairan Lokasi Pengambilan Sampel	15
3.4 Alat dan Bahan	17
3.4.1 Alat	17
3.4.2 Bahan	19
3.5 Desain Penelitian	20
3.6 Detail Prosedur Kerja	20
3.6.1 Prosedur Pengambilan Sampel <i>Terebralia sulcata</i>	21

3.6.2 Prosedur Pengukuran Parameter Lingkungan Perairan	21
3.6.3 Prosedur Penghancuran Sampel	22
3.6.4 Prosedur Ekstraksi Sentrifugasi Lendir <i>Terebralia sulcata</i>	23
3.6.5 Prosedur Uji Antibakteri	24
3.6.6 Prosedur Uji Sitotoksik	27
3.3.6 Prosedur Uji Elektroforesis SDS-PAGE (<i>Sodium dodecyl polyacrilamide gel electrophoresis</i>)	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Preparasi Sampel Lendir <i>Terebralia sulcata</i>	31
4.2 Hasil Ekstraksi Sentrifugasi Lendir <i>Terebralia sulcata</i>	32
4.3 Hasil Uji Antibakteri	33
4.4 Hasil Uji Sitotoksik.....	36
4.5 Hasil Uji Elektroforesis	40
5. PENUTUP	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
LAMPIRAN	49



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Parameter Lingkungan Perairan	16
Tabel 2. Alat yang digunakan pada penelitian	17
Tabel 3. Bahan yang digunakan pada penelitian	19
Tabel 4. Desain Penelitian	20
Tabel 5. Data Diameter Zona Bening Lendir <i>Terebralia sulcata</i>	34
Tabel 6. Kategori penghambatan mikroba berdasarkan zona bening	36
Tabel 7. Jumlah Larva <i>Artemia salina</i> yang Mati Pada Tiap Sampel	37
Tabel 8. Nilai LC_{50} Sampel Lendir <i>Terebralia sulcata</i>	38
Tabel 9. Hasil LC_{50} lendir <i>Terebralia sulcata</i>	39
Tabel 10. Nilai LC_{50} dan potensinya	40



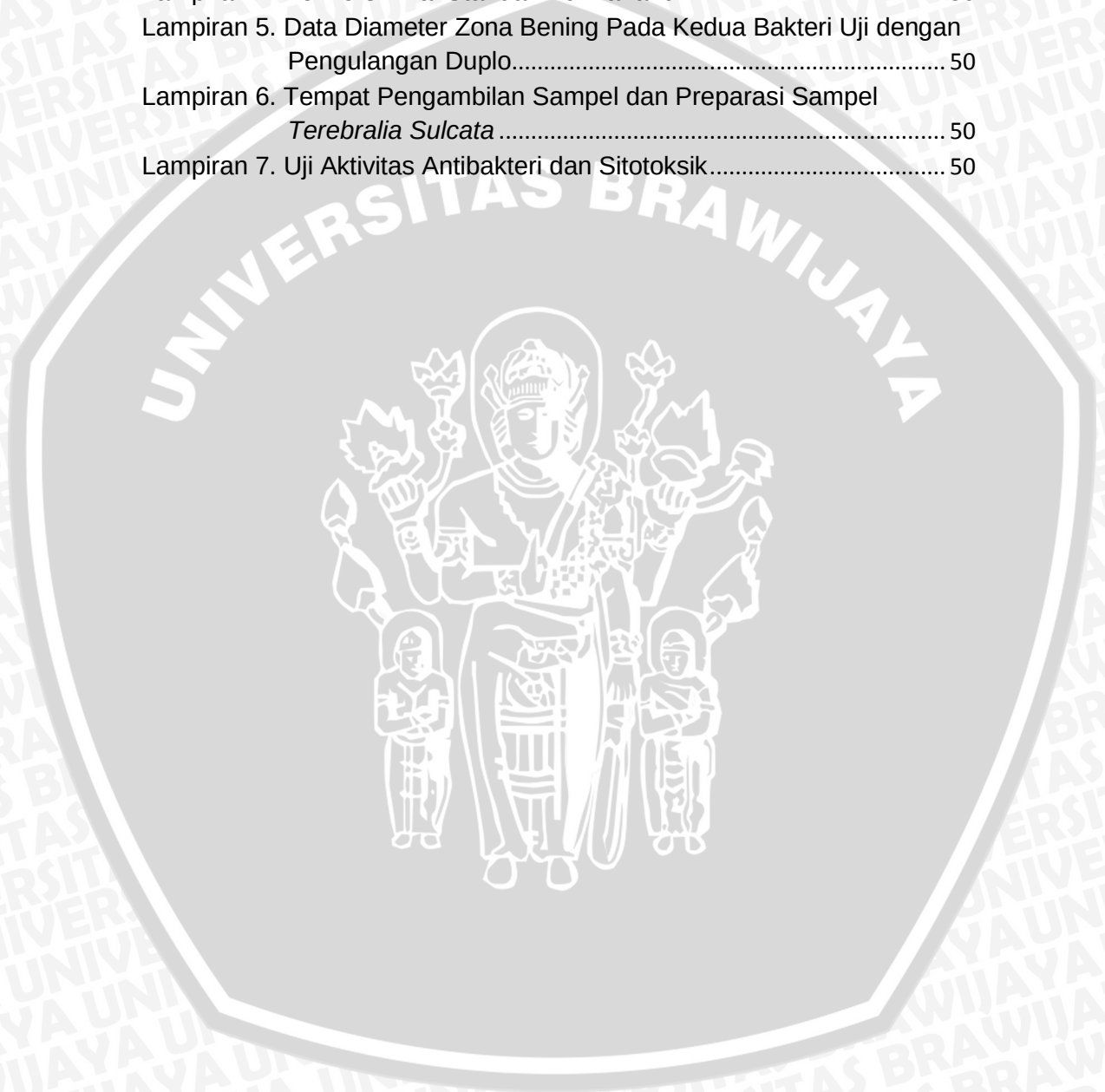
DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi <i>Terebralia sulcata</i>	7
Gambar 2. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Gambar 3. <i>Eshrichia coli</i>	11
Gambar 4. Pantai Clungup	14
Gambar 5. Habitat <i>Terebralia sulcata</i>	15
Gambar 7. Stok Sampel <i>Terebralia sulcata</i>	32
Gambar 8. Hasil Ekstraksi Sentrifugasi Lendir <i>Terebralia sulcata</i>	33
Gambar 9. Hasil diameter zona bening <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Gambar 10. Hasil Diameter Zona Bening <i>Escherichia coli</i>	34
Gambar 11. Persamaan regresi linear tiap sampel lendir <i>Terebralia sulcata</i>	38
Gambar 12. Hasil uji elektroforesis sampel dengan kecepatan (1) 12000 g, (2) 15000 g, (3) 18000 g	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Waktu Pelaksanaan S Penelitian kripsi	49
Lampiran 2. Standar Kepekatan Mc. Farland dan Unit Absorbansi	50
Lampiran 3. Persamaan Regresi Linear Standar Mc. Farland.....	50
Lampiran 4. Konversi Nilai Standar Mc. Farland.....	50
Lampiran 5. Data Diameter Zona Bening Pada Kedua Bakteri Uji dengan Pengulangan Duplo.....	50
Lampiran 6. Tempat Pengambilan Sampel dan Preparasi Sampel <i>Terebralia Sulcata</i>	50
Lampiran 7. Uji Aktivitas Antibakteri dan Sitotoksik.....	50



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional saat ini terus meningkat, hal ini dikarenakan penggunaan obat yang tidak sesuai dengan dosis mengakibatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik. Munculnya mekanisme *multidrug resistance* (MDR) mengakibatkan berkurangnya efikasi dan penurunan selektivitas obat terhadap mikroba patogen yang menyerang tubuh. Dali *et al.* (2011) menyatakan bahwa beberapa bakteri patogen menjadi resisten terhadap antibiotik yang ada karena mekanisme mutasi gen pada bakteri patogen, hal tersebut mengakibatkan dosis antibiotik yang ada harus ditingkatkan.

Beberapa bakteri yang dapat menimbulkan efek negatif pada tubuh adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, tidak bergerak dan ditemukan satu-satu, berpasangan, berantai pendek atau bergerombol, tidak membentuk spora, tidak berkapsul, dan dinding selnya mengandung dua komponen utama yaitu peptidoglikan dan asam teikhoat. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang bernetabolisme secara aerob dan anaerob. Infeksi yang ditimbulkan dari bakteri ini digolongkan sebagai penyakit menular atau menyebar (Ernest, 1996).

Escherichia coli merupakan mikroorganisme indikator dalam analisis uji air yang tercemar oleh tinja dan merupakan bakteri gram negatif. Penyebaran bakteri ini cenderung pasif dan dapat melalui makanan atau minuman. *Escherichia coli* memiliki peranan yang cukup penting untuk melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogen, *Escherichia coli* akan berpindah menjadi patogen apabila berpindah dari habitat normal ke bagian lain dalam inang. Misalnya pada manusia bila *Escherichia coli* dalam usus masuk dalam kandung kemih dapat menyebabkan sistis atau peradangan pada selaput lendir organ

tersebut. Sifat khusus yang dimiliki *Escherichia coli* antara lain merupakan parasit dalam saluran pencernaan makanan manusia dan hewan berdarah panas, pada manusia kadang-kadang menyebabkan penyakit eritis, peritonitis dan cystitis (Meliawati, 2009).

Selain masalah antibakteri, Kanker juga merupakan salah satu penyakit yang membutuhkan perhatian khusus akan pencarian bahan baku obat dari alam. Menurut Susanti *et al.* (2010) Kendala dalam membebaskan masyarakat dari penyakit kanker dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah harga obat sintetis yang banyak digunakan saat ini relatif mahal dan memiliki efek samping yang cukup besar. Beberapa penelitian mengenai bahan baku obat dari alam telah banyak dilaporkan sebagai bukti ilmiah, salah satu sumber bahan baku obat alami yang cukup melimpah terdapat di lautan. Menurut Ali *et al.* (2006) bahan alam dari laut memiliki kemampuan bioaktivitas yang dapat digunakan sebagai antivirus, antibiotik, antifungi, antibakteri, antiinflamasi dan antikanker.

Terebralia sulcata merupakan salah satu jenis gastropoda yang banyak hidup di daerah estuari atau hutan mangrove yang substratnya kasar dan memiliki densitas yang tinggi. Cangkangnya berukuran sedang, bentuknya *pendant*, panjangnya mencapai 60 mm (Houbrick, 1991). Sumarto *et al.* (2011) menyatakan bahwa di Sulawesi Selatan, Kabupaten Polewali, obat anti infeksi yang digunakan secara turun temurun oleh masyarakat pesisir berasal dari siput bakau. Siput bakau tersebut digunakan untuk mengobati berbagai penyakit infeksi seperti luka bakar, sakit gigi, TBC hingga usus buntu. Menurut Sumarko dan Sujoko (2011) di daerah Simpang Baru Riau, *Terebralia sulcata* digunakan sebagai bahan pangan berprotein tinggi. Kandungan yang terdapat pada *Terebralia sulcata* dapat dikategorikan sebagai air 9,91%, protein 9,26%, lemak

1,03% dan kalsium 198 mg, kandungan protein yang cukup tinggi bermanfaat untuk pertumbuhan dan memperbaiki jaringan yang rusak.

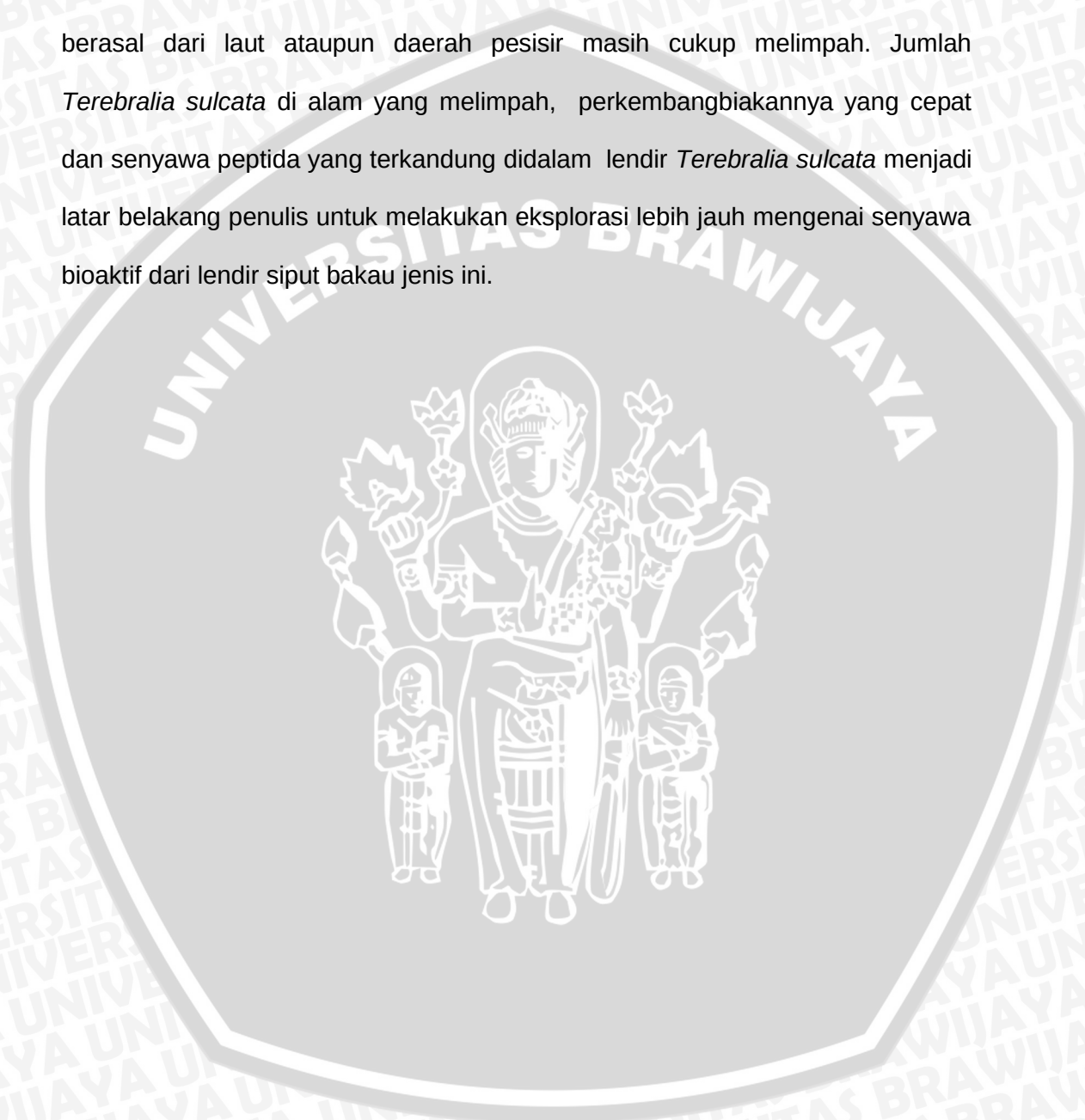
Nurjanah *et al.* (2011) Senyawa bioaktif pada gastropoda menurut diidentifikasi sebagai peptida, depsipeptida, seskuiterpen, skualen, terpen, alkaloid, polipropionat, senyawa nitrogen, makrolida, prostaglandin, turunan asam lemak, dan senyawa lain. Senyawa tersebut memiliki aktivitas tertentu seperti antikanker. Abarrategui *et al.* (2012) menyatakan bahwa protein pada gastropoda mengandung peptida antimikroba. Peptida antimikroba tersebut memiliki kemampuan dalam menghambat aktivitas mikroorganisme seperti bakteri gram negatif dan positif, jamur dan virus.

Lendir merupakan protein yang menyelimuti tubuh gastropoda dan memiliki fungsi biologik penting. Menurut Berniyanti dan Suwarno (2007) lendir pada gastropoda berfungsi sebagai pelindung tubuh dari luka-luka dan membantu moluska dalam melakukan pergerakan secara halus, selain itu lendir juga berfungsi sebagai pencegah pengupan pada tubuh moluska. Menurut penelitian Aneiros dan Garateix (2004) Senyawa peptida antimikroba pada lendir gastropoda diketahui mengandung peptida Cytotoxic cyclic dan dolastatine yang merupakan peptida linier, peptida tersebut diidentifikasi memiliki aktivitas senyawa antikanker.

Proses isolasi lendir *Terebralia sulcata* dapat dilakukan melalui 2 cara yaitu elektrik shok dan metode isolasi sentrifugasi. Metode isolasi sentrifugasi digunakan untuk memisahkan molekul peptida berdasarkan berat molekulnya, sehingga peptida yang didapatkan merupakan peptida murni lendir *Terebralia sulcata*. Menurut Factiyah *et al.* (2011) fungsi dari proses isolasi sentrifugasi adalah memisahkan debris (organel sel yang tidak hancur) dan makromelekul penyusun protein salah satunya peptida, dengan sentrifugasi debris atau organel

sel akan mengendap didasar tabung sedangkan makromolekul akan terlarut dalam buffer.

Pemanfaatan lendir siput bakau khususnya jenis *Terebralia sulcata* sebagai bahan obat alami perlu ditingkatkan, hal ini dikarena bahan obat alami yang berasal dari laut ataupun daerah pesisir masih cukup melimpah. Jumlah *Terebralia sulcata* di alam yang melimpah, perkembangbiakannya yang cepat dan senyawa peptida yang terkandung didalam lendir *Terebralia sulcata* menjadi latar belakang penulis untuk melakukan eksplorasi lebih jauh mengenai senyawa bioaktif dari lendir siput bakau jenis ini.



1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penyusunan Lporan Skripsi ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana hasil uji aktivitas antibakteri lendir *Terebralia sulcata* dengan metode isolasi sentrifugasi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?
2. Bagaimana hasil uji sitotoksik lendir *Terebralia sulcata* dengan metode isolasi sentrifugasi ?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penyusunan Laporan Skripsi ini adalah untuk mengetahui :

1. Kemampuan antibakteri lendir *Terebralia sulcata* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*
2. Efek sitotoksik lendir *Terebralia sulcata* dengan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penyusunan Laporan Skripsi ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui kemampuan antibakteri dan sitotoksik lendir *Terebralia sulcata*
2. Referensi di bidang bioteknologi kelautan tentang produk obat dari bahan alam laut
3. Memberikan kesadaran kepada masyarakat umum tentang perlindungan terhadap organisme laut, demi terselenggaranya kegiatan eksplorasi bioteknologi kelautan dan pemanfaatannya secara berkelanjutan

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi dan Klasifikasi *Terebralia sulcata*

Moluska menurut Ariani (2004) adalah fauna yang banyak ditemukan di substrat mangrove yang keras (akar dan batang pohon mangrove) dan lunak (lumpur). Gastropoda merupakan salah satu kelas moluska yang memanfaatkan partikel serasah dari daun mangrove sebagai makanan. Dalam rantai makanan pada struktur dan komposisi vegetasi mangrove, gastropoda berperan sebagai *detritus feeder* dari serasah daun mangrove.

Houbrick (1991) menyatakan bahwa *Terebralia sulcata* memiliki cangkang yang berukuran sedang, bentuknya *pendant*, panjangnya mencapai 60 mm. Terdistribusi di sepanjang Pasifik Barat dari Selatan Ryukyus sampai Taiwan, China, Vietnam dan sepanjang pesisir Filipina. Siradju (2013) menjelaskan bahwa, spesies gastropoda di Indonesia masih banyak dipelajari karena Indonesia memiliki perairan yang luas dan habitat yang bervariasi sehingga memungkinkan ditemukannya berbagai jenis Gastropoda. Menurut Born (1778) klasifikasi taksonomi dari *Terebralia sulcata* dan bentuk luar (morfologi) *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Gambar 1.

Filum : Mollusca

Kelas : Gastropoda

Ordo : Caenogastropoda

Famili : Potamididae

Genus : *Terebralia*

Spesies : *Terebralia sulcata*



Gambar 1. Morfologi *Terebralia sulcata*

Sumber : Born (1778)

Gastropoda jenis *Terebralia sulcata* pada saat ini belum dimanfaatkan secara optimal dari segi ekonomi. Menurut Putri (2012) beberapa penelitian membuktikan bahwa gastropoda memiliki senyawa penting yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan obat alami. Kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam gastropoda meliputi alkaloid, steroid dan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antikanker, antibakteri, antifungi, antiinflamasi, antivirus dan lain sebagainya.

2.2 Peptida Antimikroba

Peptida antimikroba ditemukan pada moluska dan biota laut lainnya. Abarrategui *et al.* (2012) menjelaskan bahwa daging gastropoda diketahui memiliki kemampuan untuk melawan dan mengurangi efek toksik dari beberapa penyakit yang timbul akibat mikroba patogen yang menyerang manusia. Peptida antimikroba dapat menghambat aktivitas mikroorganisme, baik pada bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif, yeast, jamur, virus, protozoa dan parasit seperti nematode.

Hua *et al.* (2009) menjelaskan bahwa peptida antimikroba merupakan komponen penting sebagai imunitas alami suatu organisme. Peptida antimikroba berfungsi untuk melawan invasi mikroba berdasarkan klasifikasi ukuran dan

berat partikelnya. Menurut penelitian yang dilakukan Berniyanti dan Suwarno (2007) berat protein pada gastropoda yang memiliki aktivitas antibakteri sebesar 71 kDa, sedangkan menurut Tarman *et al.* (2012) berat protein yang berfungsi sebagai antikanker terdapat pada *range* 20-25 kDa.

Peptida antimikroba dapat ditemukan pada moluska laut seperti kerang, abalone dan kerang venerki. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Aneiros dan Garateix (2004) peptida Cytotoxic cyclic ditemukan dalam tubuh gastropoda. Dolastatins merupakan salah satu peptida linier yang diisolasi dari gastropoda *Dolabella auricularia* yang memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan aktivitas sel yang terlalu cepat. Pada gastropoda jenis lain juga ditemukan kelompok peptida penting lainnya, namun peptida ini memiliki susunan yang padat dan stabil, peptida tersebut diketahui sebagai conotoxins yang diisolasi melalui rangsangan membrane reseptor. Cytotoxic lainnya yang diisolasi dari gastropoda jenis *Pleurobranchus forskalii* adalah Keenamide yang dapat menghambat aktifitas sel tumor dan dapat juga digunakan sebagai antikanker.

2.3 Antibakteri dan Fungsinya

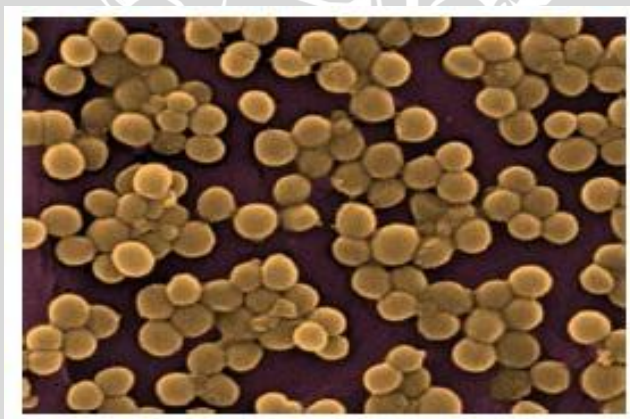
Antibakteri menurut Wijaningsih (2008) adalah komponen yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteristatik) atau membunuh bakteri (bakterisidal). Antibakteri merupakan zat aktif pembasmi bakteri, terutama bakteri yang merugikan manusia, antibakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif atau suatu zat aktif yang berbahaya bagi parasit tetapi aman bagi inang. Toksisitas selektif bersifat relatif berdasarkan konsentrasi yang dapat ditoleransi oleh inang tetapi dapat merusak parasit.

Menurut Khainufi (2010) antibakteri atau antimikroba merupakan komponen kimia yang mempunyai kemampuan dalam mematikan

mikroorganisme. Antimikroba dapat disebut sebagai bakterisidal apabila memiliki kemampuan membunuh mikroba, sedangkan bakteristatik adalah antibakteri yang hanya dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, berbentuk bulat dengan diameter 0,17-1,2 μm , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora dan fakultatif anaerob. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu optimal 37°C, koloni pada pembenihan padat berwarna kuning, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau. Sebagian besar bakteri ini merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan dan saluran pencernaan makanan pada manusia. *Staphylococcus aureus* patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis dan membentuk koagulase (Kusuma, 2009). Gambar 2 menggambarkan morfologi *Staphylococcus aureus* menurut Kusuma (2009).



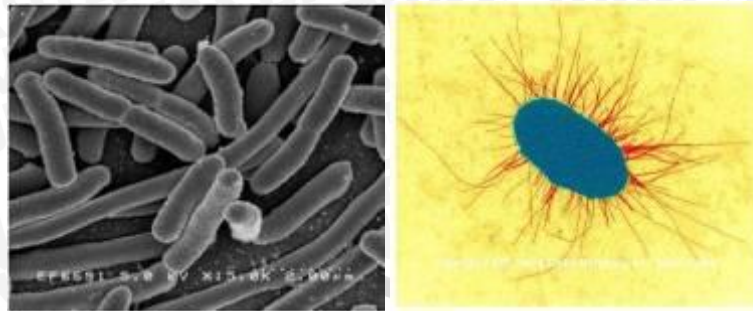
Gambar 2. *Staphylococcus aureus*

Sumber : Kusuma (2009)

Menurut Khainufi (2010) *Staphylococcus aureus* menginfeksi manusia pada daerah membrane mukosa, saluran pernafasan bagian atas dan saluran pencernaan. Penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain meningitis, endokarditis, perkarditis dan bisul. *Staphylococcus aureus* membentuk enterotoksin yang stabil pada pernafasan. Enterotoksin dapat menyebabkan gejala keracunan makanan seperti mual, diare dan muntah-muntah.

2.3.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm yang bersifat anaerob fakultatif dan termasuk dalam anggota flora alami usus. *Escherichia coli* membentuk koloni bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata. *Escherichia coli* adalah anggota flora alami dalam usus, *Escherichia coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk kedalam bakteri heterotorof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungan karena bakteri ini tidak dapat menyusun zat organik yang dibutuhkannya, zat organik ini diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik makanan menjadi zat anorganik seperti energi dan mineral. Dalam lingkungan, bakteri ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Kusuma, 2010). Gambar 3 menggambarkan morfologi *Escherichia coli* menurut Meliawati (2009).



Gambar 3. *Escherichia coli*

Sumber : Meliawati (2009)

Escherichia coli merupakan mikroorganisme indikator dalam analisis uji air yang tercemar oleh tinja. Penyebaran bakteri ini cenderung pasif dan dapat melalui makanan atau minuman. *Escherichia coli* memiliki peranan yang cukup penting untuk melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogen, *Escherichia coli* akan berpindah menjadi patogen apabila berpindah dari habitat normal kebagian lain dalam inang. Misalnya pada manusia bila *Escherichia coli* dalam usus masuk dalam kandung kemih dapat menyebabkan sistis atau peradangan pada selaput lendir organ tersebut. Sifat khusus yang dimiliki *Escherichia coli* antara lain merupakan parasit dalam saluran pencernaan makanan manusia dan hewan berdarah panas, pada manusia kadang-kadang menyebabkan penyakit eritis, peritonitis dan cystitis. Hasil uji *methyl red* positif keluarga dari spesies *Escherichia coli* menfermentasikan laktosa dan glukosa dengan menghasilkan asam dan gas (Meliawati, 2009).

2.4 Sitotoksik dan Fungsinya

Potensi sitotoksik dari suatu senyawa merupakan kemampuan suatu senyawa atau substansi kimia sebagai sumber senyawa antitumor dan antikanker. Metode isolasi senyawa aktif sitotoksik dapat dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Mekanisme MDR (*Multidrug Resistance*)

mengakibatkan penurunan selektivitas dari obat antikanker sintetis yang ada saat ini. Oleh karena itu pencarian obat antikanker dari bahan alam harus terus dilakukan, guna pemenuhan kebutuhan obat alami yang memiliki kemampuan maksimal, harga yang terjangkau dan efek samping yang minim (Handayani *et al.*, 2012).

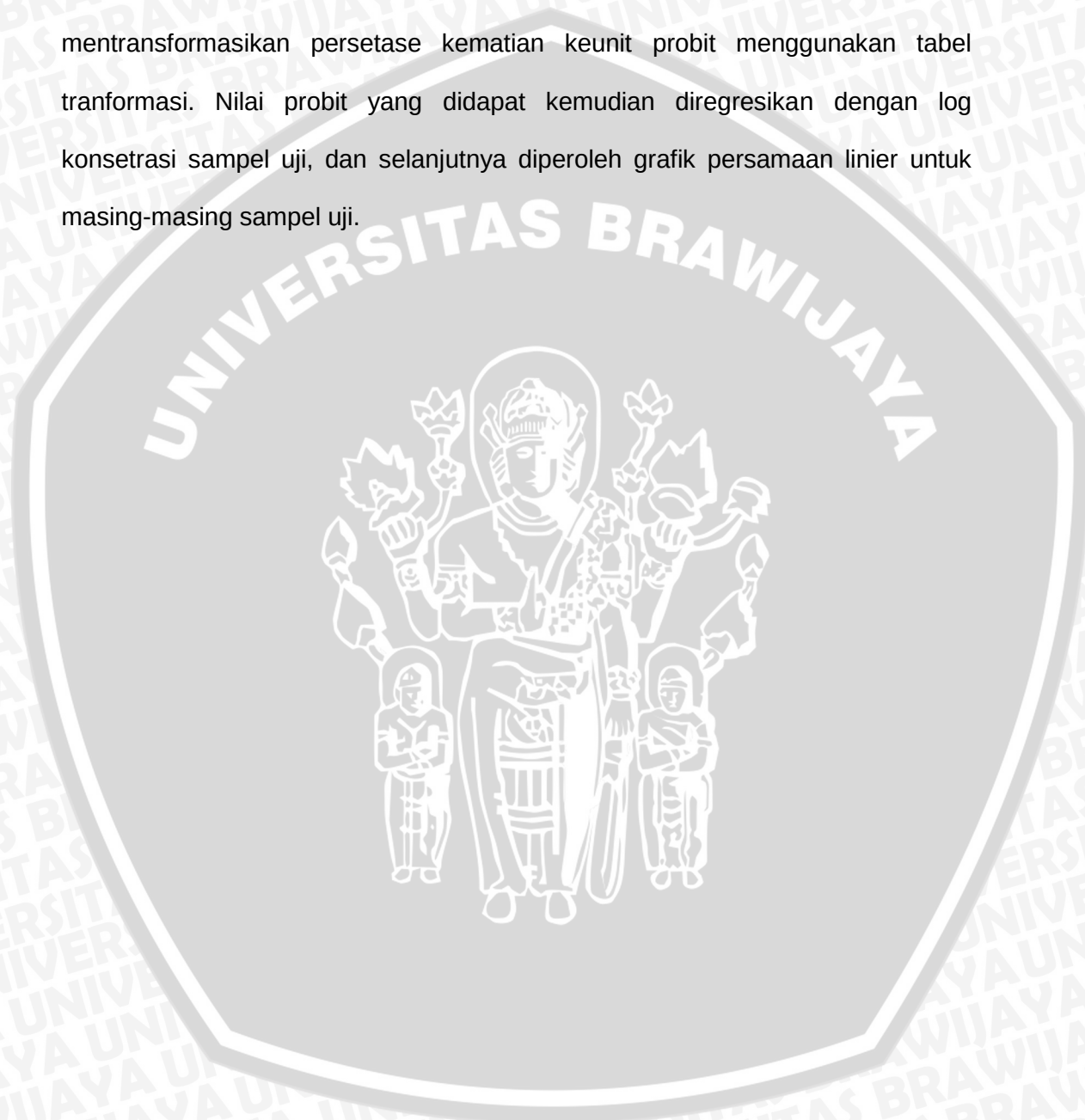
Kebutuhan obat baru sebagai antikanker semakin mendesak, hal ini disebabkan obat-obatan yang digunakan selama ini memiliki efektivitas rendah dan harga yang mahal, pencarian sumber-sumber baru untuk menghasilkan senyawa antikanker terus dilakukan antara lain dari bioaktif yang dihasilkan biota laut. Senyawa bioaktif yang akan digunakan sebagai produk farmasi sebagai antikanker harus diujikan terlebih dahulu pada hewan percobaan sitotoksik, uji sitotoksik itu sendiri menurut Puji *et al.* (2010) merupakan uji pengembangan metode untuk memprediksi suatu senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker.

Uji sitotoksik merupakan uji kemampuan suatu senyawa kimia penapisan anti kanker yang berasal dari ekstrak tanaman maupun hewan. Menurut Radji *et al.* (2008) uji sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), karena metode ini merupakan metode penapisan yang mudah dan ekonomis, mempunyai keterulangan yang cukup baik untuk menentukan efek sitotoksik tanaman ataupun hewan. Pada penentuan toksisitas suatu ekstrak biasanya digunakan media dengan kadar garam 15-300 permil.

2.5 Lethal Concentration 50% (LC₅₀)

Uji LC-50 atau *lethal concentration* digunakan untuk mengetahui level konsentrasi suatu sampel uji dengan cara menghitung jumlah hewan uji yang mati pada setiap konsentrasi, uji ini dilakukan untuk mengetahui ambang batas bawah suatu sampel (Narwiyani, 2010).

Menurut Jumiarti (2013) *lethal concentration* (LC_{50}) merupakan konsentrasi toksin yang dapat membunuh 50% dari populasi hewan uji. Setelah mendapatkan persentase kematian hewan uji kemudian dilakukan analisa probit untuk menentukan nilai LC_{50} dari setiap sampel. Nilai probit didapatkan dengan cara mentransformasikan persentase kematian ke unit probit menggunakan tabel transformasi. Nilai probit yang didapat kemudian diregresikan dengan log konsentrasi sampel uji, dan selanjutnya diperoleh grafik persamaan linier untuk masing-masing sampel uji.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Tempat pengambilan sampel *Terebralia sulcata* dilakukan di Pantai Clungup, Kabupaten Malang. Pengamatan laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya. Waktu pelaksanaan penelitian Skripsi mulai dari pengambilan sampel hingga uji laboratorium berlangsung pada bulan Maret hingga Mei 2015.

3.2 Keadaan Umum Lokasi Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di pantai Clungup. Pantai Clungup berada pada daerah lingkaran Pantai Selatan Jawa, Desa Sitiarjo, Kecamatan Sumbermanjing, Kabupaten Malang. Lokasi dari Pantai Clungup ini terisolasi oleh kebun milik warga daerah sekitar dan bukit-bukit tinggi yang membuat akses menuju pantai ini cukup sulit. Pantai yang masih asri dan jauh dari pencemaran ini memiliki gugusan pulau kecil dan karang yang indah. Tekstur pasirnya putih halus dan kekuatan ombak pada radius kurang dari 500 m cukup bersahabat (Annisa, 2014). Kondisi pantai clungup dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pantai Clungup

Sumber : Annisa (2014)

Akses menuju Pantai Clungup dapat melalui Pantai Goa China, tetapi medan yang harus dilalui cukup berat dan *tracking* yang dilalui sejauh kurang lebih 4 km. Mengikuti petunjuk arah menuju Pantai Sendang Biru, sekitar 200 m kemudian berbelok ke kanan dan kendaraan bermotor dapat dititipkan pada petugas pokmaswas maupun warga sekitar. Perjalanan dilanjutkan dengan berjalan kaki melalui jalan setapak. Terdapat muara sungai dan sedikit perbukitan dan estimasi waktu perjalanan sampai ke Pantai Clungup sekitar 20 menit (Arif, 2014).

3.3 Kondisi Perairan Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel *Terebralia sulcata* berada pada daerah estuari pantai clungup, kabupaten Malang tepatnya pada titik koordinat 8°43'76" LS 112°66'58"BT. Kondisi perairan secara morfologi cukup asri dan alami, spesies siput bakau banyak ditemukan dibagian kaki atau akar mangrove jenis *Avicenia marina*. Siput bakau jenis *Terebralia sulcata* dan *Telescopium telescopium* merupakan spesies gastropoda dengan jumlah yang paling mendominasi. Habitat dari *Terebralia sulcata* terdapat didaerah lumpur berpasir dekat dengan perairan. Kondisi fisik mengenai habitat *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Habitat *Terebralia sulcata*

Nilai parameter lingkungan perairan pada lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Lingkungan Perairan

No	Parameter Lingkungan	Nilai	Baku Mutu
1	Suhu	29 ⁰ c	28-32 ⁰ c
2	pH	7,72	7-8,5
3	Salinitas	30 ppt	s/d 34 ppt
4	DO (<i>Disolve Oksigen</i>)	7,0 ppm	>5 ppm

Berdasarkan hasil pengukuran parameter lingkungan estuari (suhu, pH, salinitas, DO) pada lokasi pengambilan sampel *Terebralia sulcata* kondisi perairan termasuk dalam kategori normal atau sesuai dengan baku mutu air laut berdasarkan kepmenLH No 51 tahun 2004. Kondisi perairan pada lokasi pengambilan sampel secara visual memiliki karakteristik air yang jernih dengan substrat lumpur berpasir, disominasi oleh mangrove jenis *Avicenia marina* dengan morfologi akar nafas. Spesies ikan gelodok, kepiting bakau dan beberapa jenis gastropoda dapat ditemukan pada lokasi pengambilan sampel, hal tersebut yang mendasari penulis untuk melakukan pengambilan sampel di pantai Clungup.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Alat yang digunakan pada penelitian

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1.	Skop Kecil	-	Mengambil <i>Terebralia sulcata</i>
2.	Ember	1 liter	Wadah <i>Terebralia sulcata</i>
3.	Handout	Google Image	Referensi saat pengambilan sampel <i>Terebralia sulcata</i>
4.	Kamera	Iphone resolusi 5 Mp	Dokumentasi kegiatan, spesies, dan penggambaran kondisi lapang
5.	Penampan	-	Tempat <i>Terebralia sulcata</i>
6.	Pipet tetes	-	Memisahkan lendir dari fraksi daging
7.	Tube	-	Tempat <i>Terebralia sulcata</i> ketika akan disentrifugasi
8.	Sentrifugasi	Ependorf Centrige 5810 R	Alat untuk memisahkan fraksi padat dan cair pada lendir
9.	Pipet volume	HBG 10 mL	Memindahkan cairan
10.	Bola hisap	DNN	Pelengkap pipet volume dalam pengambilan larutan
11.	Timbangan digital	AS 220/X	Mengatahui berat suatu bahan atau larutan
12.	Beaker glass	Ukuran 250 mL	Tempat larutan
13.	Spatula	-	Menghomogenkan larutan
14.	Auticlafe	Autoclave listrik-GEA Series 681	Sterilisasi alat dan bahan
15.	Cawan petri	-	Tempat uji aktivitas antibakteri
16.	Tabung reaksi	-	Tempat larutan uji

Tabel 2 lanjutan

No	Alat	Spesifikasi	Keterangan
17.	Bunsen	-	Pengkondisian aseptis
18.	Korek	Korek gas	Menyalakan Bunsen
19.	Mikro pipet	Socorec dan Fitlap	Pengambilan larutan dalam skala mikro
20.	Pinset	-	Meletakkan kertas cakram kedalam cawan petri
21.	Inkubator	Red line	Tempat inkubasi bakteri
22.	Lemari pendingin	Samsung Cool Tech suhu 4 ⁰	Penyimpanan stok bakteri dan bahan-bahan lainnya
23.	Botol kaca	-	Tempat penetasan <i>Artemia salina</i>
24.	Botol vial	-	Tempat uji sitotoksik
25.	Spektrofometer	Genesys 20	Mengukur kepekatan bakteri uji
26.	Cuvet	-	Tempat larutan yang akan diukur kepekataannya
27.	Chamber	Red line	Sebagai tempat uji elektroforesis
28.	Spektrofotometer	Nano drop	Mengukur jumlah protein lendir
29.	Kamera	BIO-RAD	Mencetak hasil elektroforesis

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Bahan yang digunakan pada penelitian

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1.	Lendir <i>Terebralia sulcata</i>	6 mL	Bahan uji antibakteri dan sitotoksik
2.	Buffer	Buffer pH 7	Larutan penyangga
3.	Serbuk nutrient agar	Oxoid 2,8 mL	Media agar untuk uji bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>
4.	Stok <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri uji gram positif
5.	Stok <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Bakteri uji gram negatif
6.	Aquades pH 7	Hydrobath	Pelarut bahan yang digunakan
7.	Kapas	One med 500 gr	Penutup labu Erlenmeyer
8.	Alumunium foil	Total wrap 7,6 m x 300 mm	Penutup mulut labu Erlenmeyer
9.	Tali wol	-	Tali pengikat alumunium foil
10.	Kertas label	Chadwell 9x20 mm	Penanda larutan dan jenis bakteri
11.	Tissue	Montiss 2 ply	Membersihkan daerah kerja antibakteri
12.	Kertas cakram	Oxoid	Kertas khusus penyerap ekstrak larutan uji
13.	Telur larva <i>Artemia salina</i>	Supreme plus	Hewan uji sitotoksik
14.	Nutrient broth	Oxoid	Kultur cair bakteri uji
15.	Air laut buatan	-	Media penetasan telur larva <i>Artemia salina</i>
16.	Separating gel 10%	-	Media uji elektroforesis
17.	Stacking gel 3%	-	Media tempat sampel yang akan diuji elektroforesis

3.5 Desain Penelitian

Tabel 4. Desain Penelitian

Bakteri	ulangan	Konsentrasi (ppm)		
		1000 (1)	1500 (2)	2000 (3)
SA (A)	a	A1a	A2a	A3a
	b	A1b	A2b	A3b
EC (B)	a	B1a	B2a	B3a
	b	B1b	B2b	B3b

Pada tabel tersebut bakteri uji *Staphylococcus aureus* dilambangkan dengan huruf (A) sedangkan *Escherichia coli* dilambangkan dengan huruf (B), untuk ulangan dilakukan secara duplo, ulangan satu dilambangkan dengan huruf (a) dan ulangan dua dilambangkan dengan huruf (b), pada uji aktivitas antibakteri variasi konsentrasi yang digunakan adalah 1000 ppm yang dilambangkan dengan angka (1), 1500 ppm yang dilambangkan dengan angka (2) dan 2000 ppm yang dilambangkan dengan angka (3).

3.6 Detail Prosedur Kerja

Detail prosedur kerja penelitian skripsi ini meliputi beberapa tahapan, prosedur pengambilan sampel *Terebralia sulcata*, prosedur penghancuran sampel, prosedur ekstraksi sentrifugasi, prosedur uji aktivitas antibakteri, prosedur uji sitotoksik, prosedur uji elektroforesi dengan metode SDS-PAGE.

3.6.1 Prosedur Pengambilan Sampel *Terebralia sulcata*

Pengambilan sampel *Terebralia sulcata* dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

1. Menentukan titik koordinat lokasi pengambilan sampel berdasarkan kelimpahan spesies *Terebralia sulcata*
2. Mengumpulkan spesies *Terebralia sulcata* dengan ukuran panjang cangkang ± 5 cm dan berat $\pm 0,5$ gr ke dalam ember
3. Melakukan dokumentasi lokasi

3.6.2 Prosedur Pengukuran Parameter Lingkungan Perairan

Pengukuran parameter lingkungan meliputi pengukuran suhu, pH, salinitas, dan *Dissolve Oxygen* (DO). Detail pengukuran tersebut adalah sebagai berikut :

1. Pengukuran suhu :
 - a. Memasukkan thermometer ke dalam perairan ± 3 menit
 - b. Mencatat hasil yang tertera pada skala thermometer
2. Pengukuran pH :
 - a. Mengkalibrasi sensor pH meter dengan akuades
 - b. Mencelupkan sensor pH meter ke dalam perairan ± 3 menit
 - c. Menekan tombol "hold"
 - d. Mencatat hasil yang tertera pada display

3. Pengukuran salinitas :
 - a. Mengkalibrasi sensor salinometer dengan akuades
 - b. Meneteskan 4 tetes atau lebih air laut hingga sensor salinometer terisi penuh kemudian tekan tombol star
 - c. Mencatat hasil yang tertera pada display salinometer
4. Pengukuran *Dissolve Oxygen* :
 - a. Mengkalibrasi sensor DO meter dengan akuades
 - b. Mencilupkan sensor DO meter ke dalam perairan
 - c. Menekan tombol "ON"
 - d. Mencatat hasil yang didapatkan
 - e. Melakukan dokumentasi pengukuran

3.6.3 Prosedur Penghancuran Sampel

Penghancuran sampel *Terebralia sulcata* dilakukan untuk memudahkan proses pemisahan lendir dengan daging saat sentrifugasi, tahapan penghancuran sampel *Terebralia sulcata* adalah sebagai berikut :

1. Menyiapkan *Terebralia sulcata* dan peralatan lainnya seperti palu, pisau, talenan, mortar dan alu
2. Mememcahkan cangkang *Terebralia sulcata* kemudian memotong bagian daging hingga berukuran sangat kecil
3. Menghancurkan bagian daging dengan menggunakan mortar dan alu hingga halus
4. Menimbang dan Mencampurkan daging yang sudah halus dengan larutan buffer pH 7 dengan perbandingan 1:1

3.6.4 Prosedur Ekstraksi Sentrifugasi Lendir *Terebralia sulcata*

Proses Ekstraksi Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan fraksi lendir dan daging *Terebralia sulcata*, proses isolasi sentrifugasi menurut Ihtiarto (2011) dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

1. Menyiapkan sampel *Terebralia sulcata* yang akan disentrifugasi
2. Melakukan sentrifugasi pada sampel *Terebralia sulcata* dengan variasi kecepatan 12000 g, 15000 g, 18000 g, suhu 4° selama 30 menit dan memisahkan hasil sentrifugasi berupa larutan buffer, fraksi lendir dan daging
3. Melakukan penyimpanan fraksi lendir yang sudah terpisah kedalam freezer lemari pendingin dan siap untuk uji sitotoksik, uji antibakteri dan uji elektroforesis



3.6.5 Prosedur Uji Antibakteri

Tahapan uji antibakteri yang dilakukan, meliputi beberapa proses dibawah ini :

1. Prosedur pembuatan media NB (Nutrient Broth) sebagai media kultur cair dan prosedur inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* berdasarkan Purwandani (2012) adalah sebagai berikut :
 - a. Menimbang 1,3 gr serbuk NB
 - b. Menyiapkan 100 ml akuades
 - c. Mencampurkan serbuk NB dengan akuades lalu menghomogenkannya
 - d. Menutup dengan kapas, membungkus dengan alumunium foil dan mengikat dengan tali wol bagianmulut labu erlenmeyer
 - e. Mensterilisasi larutan NB ± 15 menit, pada suhu 121°C dan tekanan 1,25 atm
 - f. Menyiapkan stok *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta media NB yang telah mendingin kedalam Laminary Air Flow
 - g. Memindahkan stok bakteri dari media agar miring ke dalam media cair NB sebanyak satu mata jarum ose
 - h. Menginkubasi stok bakteri pada NB tersebut ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C

Perhitungan jumlah media NB yang dibutuhkan berdasarkan Purwandani (2012) adalah sebagai berikut :

$$\text{NB} = \frac{13}{1000} \times \sum \text{Labu Erlenmeyer} \times 100$$

Keterangan :

- 13 : Jumlah komponen media NB (gr)
- 1000 : Volume aquadest pada komponen media NB (mL)
- 100 : Volume aquadest yang diperlukan untuk satu stok kultur bakteri (mL)

2. Prosedur pengukuran kepekatan stok kultur menggunakan Spektrofotometer UV-VIS hingga didapatkan stok bakteri dengan kepekatan 10^8 menurut Huda (2001) adalah sebagai berikut :

- a. Menyalakan spektrofotometer dengan menekan tombol ON pada bagian samping spektrofotometer
- b. Mengatur panjang gelombang 600 nm (untuk larutan berwarna orange panjang gelombang (595-600 nm))
- c. Memasukan larutan NB tanpa bakteri kedalam cuvet sebanyak 1,5 mL sebagai blako kemudian tekan 0 ABS 100%T zero
- d. Memindahkan cuvet dari dalam spektrofotometer dan dibersihkan dengan aquades, kemudian isi dengan stok kultur NB yang akan dihitung kepekatan bakterinya
- e. Memasukan cuvet stok kultur NB dan catat panjang gelombang yang tertera pada display spektrofotometer

3. Prosedur pembuatan media NA (Nutrient Agar) sebagai media uji antibakteri berdasarkan Purwandani (2012) adalah sebagai berikut :

- a. Menimbang 6,72 gr serbuk NA
- b. Menyiapkan 240 mL akuades
- c. Mencampurkan serbuk NA dengan akuades
- d. Menutup dengan kapas, membungkus dengan aluminium foil dan mengikat dengan tali wol bagian mulut labu erlenmeyer
- e. Menyiapkan 12 cawan petri dan membungkusnya dengan kertas

- f. Mensterilisasi larutan NA dan cawan petri ± 15 menit, pada suhu 121°C dan tekanan 1,25 Atm
- g. Memindahkan larutan NA ke dalam cawan petri steril secara aseptis ke dalam Laminary Air Flow

Perhitungan jumlah media NA yang dibutuhkan berdasarkan Purwandani (2012) adalah sebagai berikut :

$$\text{NA} = \frac{28}{1000} \times \sum \text{Labu Erlenmeyer} \times 20$$

- 28 : Jumlah komponen media NA (gr)
- 1000 : Volume aquadest pada komponen media NA (mL)
- 20 : Volume aquadest yang diperlukan untuk satu cawan petri (mL)

4. Prosedur pembuatan variasi konsentrasi larutan ekstrak berdasarkan Amkas (2004) adalah sebagai berikut :
 - a. Membuat stok larutan ekstrak dengan konsentrasi tertinggi dengan cara mengonversi satuan ppm menjadi mL/L
 - b. Mengencerkan stok larutan tersebut untuk membuat variasi konsentrasi menggunakan rumus pengenceran
 - c. Merendam kertas cakram ke dalam larutan ekstrak dan kontrol ampicilin ± 15 menit
5. Prosedur uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Tahapan pengerjaannya berdasarkan Djauhari (2012) adalah sebagai berikut :
 - a. Menyiapkan larutan ekstrak yang berisi kertas cakram, stok bakteri, media NA, bunsen, korek api, spatula, pinset, sprayer, cotton swab dan tisu
 - b. Melakukan strik secara zig-zag stok bakteri pada media NA dengan menggunakan cotton swab (1 kali pencelupan untuk 3 kali strik pada 1 cawan petri)

- c. Memasukkan kertas cakram dengan bantuan spatula dan pinset yang telah dikondisikan aseptis terlebih dahulu
- d. Menginkubasi media uji antibakteri ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C
- e. Melakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona bening yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong

3.6.6 Prosedur Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan untuk skrining senyawa anti kanker dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Prosedur uji sitotoksik menurut Radji *et al.* (2008) adalah sebagai berikut sebagai berikut :

1. Penetasan *Artemia salina*
 - a. Melakukan pembuatan media penetasan dengan cara mencampur 15 g NaCl dengan 1 L air dan dialiri oksigen menggunakan aerator
 - b. Melakukan penetasan Telur udang pada media penetasan dan mendiampkannya selama 16 jam
 - c. Setelah waktu 48 jam, larva *Artemia salina* yang berenang bebas dapat digunakan untuk uji sitotoksik
2. Pengujian Efek Sitotoksik Ekstrak terhadap Larva *Artemia salina*
 - a. Mencampurkan ekstrak ke dalam vial yang telah terisi air laut steril berkadar garam 15 g/L sebanyak 3 mL
 - b. Menggunakan pipet 10 ekor larva *Artemia salina* dimasukan kedalam vial dan ditambahkan air garam hingga volume 5 mL
 - c. Melakukan pengamatan setelah larva udang diinkubasi selama 24 jam dan larva udang yang mati dan masih hidup pada masing-masing vial dihitung jumlahnya

3.3.6 Prosedur Uji Elektroforesis SDS-PAGE (*Sodium dodecyl polyacrilamide gel electrophoresis*)

Uji elektroforesis dilakukan untuk mendapatkan pita dominan suatu peptida berdasarkan berat molekulnya. Tahapan uji elektroforesis berdasarkan Berniyanti dan Suwarno (2007) adalah sebagai berikut :

1. Pengukuran kandungan protein sampel lendir *Terebralia sulcata* dengan menggunakan spektrofotometer Nano Drop
 - a. Menyalakan spektrofotometer Nano Drop dan komputer untuk analisis hasil menggunakan software ND-1000 VB
 - b. Mengatur standar pengukuran dengan larutan buffer fosfat pH 7 sebagai lanko sebanyak 1µL dan klik blank
 - c. Memasukan 1µL ekstrak lendir *Terebralia sulcata* kedalam sensor dan klik *measure*
 - d. Mencatat nilai kekeruhan protein ekstrak lendir *Terebralia sulcata* (mg/mL) yang tertera pada display
2. Prosedur pengenceran sampel
 - a. Mengencerkan sampel ekstrak lendir *Terebralia sulcata* sampai volume 20 µL dengan RSB (*Reducing Sample Buffer*), RSB selain berfungsi sebagai pewarna atau penanda jalannya sel juga penyangga agar struktur protein tetap baik saat dipanaskan, perhitungannya sebagai berikut :
 - Sampel 12000 g $\rightarrow \frac{5}{56,67} \times 20 = 1,8 \mu\text{L}$ ekstrak + 18,2 µL RSB
 - Sampel 15000 g $\rightarrow \frac{5}{53,66} \times 20 = 1,9 \mu\text{L}$ ekstrak + 18,1 µL RSB
 - Sampel 18000 g $\rightarrow \frac{5}{32,09} \times 20 = 3,1 \mu\text{L}$ ekstrak + 16,9 µL RSB

- b. Sampel protein dipanaskan hingga suhu 95°C selama $\pm$ 5 menit, fungsinya adalah agar pita protein menjadi lurus dan dapat terseparasi dengan baik pada *separating gel*
3. Prosedur elektroforesis SDS-PAGE (*Sodium dodecyl polyacrilamide gel electrophoresis*)
 - a. Menyiapkan penyangga dan *plate* sebagai alat pembentuk gel
 - b. Memasukkan larutan *separating gel* 10% ke dalam *plate* dan tunggu hingga polimerisasi (*separating gel* berfungsi sebagai media gerakanya protein)
 - c. Memasukkan larutan *stacking gel* 3% di atas *separating gel* (*stacking gel* berfungsi sebagai wadah larutan sampel)
 - d. Memasukkan sisir untuk membentuk sumuran dan tunggu hingga polimerisasi
 - e. Menyiapkan *chamber* sebagai wadah saat *running* uji elektroforesis
 - f. Memindahkan *gel* yang telah terpolimerisasi ke dalam penyangga gel yang telah terhubung dengan elektroda
 - g. Memasukkan penyangga yang berisi *gel* dan penyangga penyeimbang ke dalam *chamber*
 - h. Menambahkan larutan buffer *running* pH 7 hingga penuh ke dalam *chamber*
 - i. Memasukkan larutan ekstrak lendir *Terebralia sulcata* sebanyak 10 μ L ke dalam sumuran, larutan *blank* sebanyak 10 μ L sebagai penyeimbang dan *marker* sebanyak 3 μ L sebagai penanda berat molekul protein
 - j. Menyalakan *power supply* dan diatur tegangannya sebesar 200 V selama $\pm$ 60 menit

- k. Setelah ± 60 menit, matikan *chamber*, mengambil *gel*, membuang bagian *stacking gel* dan melakukan pewarnaan *gel* dengan CBB, fungsinya untuk melihat pita protein
 - l. Melakukan *shaker* ± 30 menit
 - m. Mencuci *gel* dengan akuades hingga bersih
4. Prosedur pembacaan hasil elektroforesis
- a. Mengambil *gel* hasil *destaining*
 - b. Menyiapkan alas pembacaan *gel* untuk protein
 - c. Menyalakan alat pembacaan *gel* (BIO-RAD) dan komputer untuk mencetak hasil
 - d. Mengatur *imaging* dengan *EPI-WHITE*
 - e. Mencetak hasil pembacaan *gel* pada komputer dengan *software biochemic*
 - f. Melakukan penulisan nilai RF (*Retardation Factor*) berdasarkan marker agar diketahui berat spesifik tiap partikel protein

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel Lendir *Terebralia sulcata*

Siput bakau jenis *Terebralia sulcata* didapatkan melalui proses *sampling*. Metode *sampling* yang digunakan adalah *purposive sampling*. Sampel dipilih dengan cermat hingga relevan dengan desain penelitian dan sampel tersebut memiliki informasi yang diperlukan (Nasution, 2001). Titik koordinat lokasi pengambilan sampel yang berada di daerah mangrove Pantai Clungup, Desa Sitiarjo, Kecamatan Sumbermanjing, Kabupaten Malang adalah 8°43'76" LS 112°66'58" BT. Titik lokasi pengambilan sampel ini didasarkan pada kelimpahan dan ukuran dominan spesies *Terebralia sulcata* dengan panjang cangkang ± 5 cm dan diameter cangkang 16,05 mm.

Sampel *Terebralia sulcata* yang digunakan setelah proses pemecahan cangkang seberat 30 gr, sampel tersebut kemudian dihaluskan. Sisa sampel kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°.

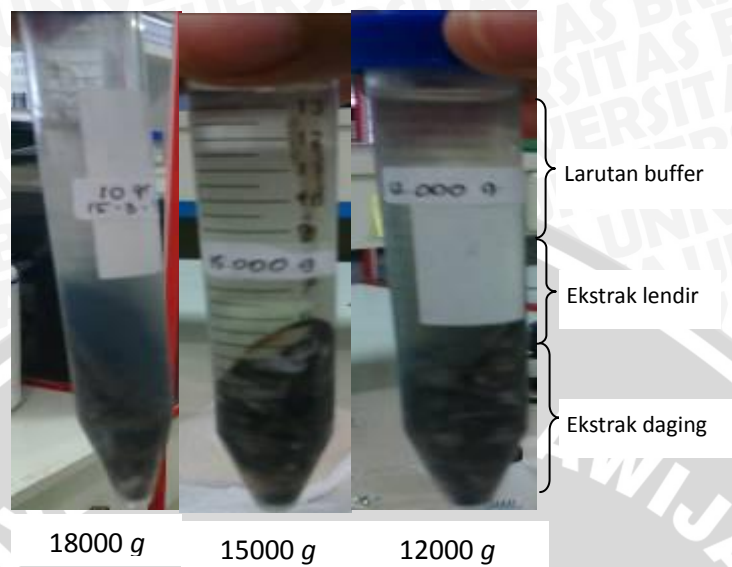
Sampel yang telah halus dicampur dengan larutan buffer fosfat pH 7, buffer fosfat digunakan untuk melarutkan dan menjaga kestabilan pH sampel daging *Terebralia sulcata*. Penggunaan larutan buffer fosfat dengan pH dan volume tertentu, menurut Michael (2011) berfungsi untuk menstabilkan larutan garam dengan cara menyeimbangkan pH dan tekanan osmotik agar struktur sel tetap terjaga. Untuk memelihara fungsi normal dari organel sel, pH dari buffer fosfat yang umum digunakan berkisar antara 7-7,6. Penggunaan buffer fosfat pH 7 ini juga didasarkan kondisi fisik lingkungan perairan laut yang memiliki *range* antara 7-8,5, karena menurut Ihtiarto (2011) protein sangat tidak stabil ketika berada diluar sel. Gambar 7 menggambarkan stok sampel *Terebralia sulcata*.



Gambar 6. Stok Sampel *Terebralia sulcata*

4.2 Hasil Ekstraksi Sentrifugasi Lendir *Terebralia sulcata*

Protein lendir *Terebralia sulcata* diperoleh melalui proses sentrifugasi, lendir yang didapat setelah proses sentrifugasi dengan variasi kecepatan yang berbeda sebanyak 6 mL dengan morfologi lendir berwarna hijau keruh dan tingkat kekentalan lendir pada setiap sampel pada umumnya sama. Sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan protein yang ada pada ekstrak daging dan lendir. Menurut Fatchiyah *et al.* (2011) sentrifugasi berfungsi untuk memisahkan bagian-bagian sel yang tidak hancur (debris), organel-organel sel dan makromolekul penyusun sel lainnya. Dengan sentrifugasi debris dan organel sel lainnya akan mengendap di dasar tube sedangkan mikromolekul seperti protein akan berada di permukaan. Menurut Ihtiarto (2011) sentrifugasi dapat digunakan sebagai proses isolasi protein karena protein akan memisah berdasarkan ukuran dan kecepatan selama proses sentrifugasi. Gambar 8 menggambarkan hasil ekstraksi sentrifugasi lendir *Terebralia sulcata* dengan beberapa variasi kecepatan 12000 g, 15000 g dan 18000 g.



Gambar 7. Hasil Ekstraksi Sentrifugasi Lendir *Terebralia sulcata* Berdasarkan Kecepatan Sentrifugasi

Penentuan kecepatan sentrifugasi didasarkan pada penelitian Ihtiarto (2011). Ekstraksi *crude venom* atau *crude protein* dari *Acanthaster planci* dilakukan dengan teknik sentrifugasi menggunakan kecepatan putaran sebesar 15.000 *g* dihasilkan endapan kotor atau fraksi padat dan supernatan. Variasi kecepatan putaran disesuaikan dengan deret aritmetika agar analisis hasil dapat dilakukan dengan baik dan mendapatkan hasil protein yang optimum dan stabil.

4.3 Hasil Uji Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan lendir *Terebralia sulcata* pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Penentuan variasi konsentrasi ekstrak lendir *Terebralia sulcata* didasarkan pada hasil uji pendahuluan. Pada uji pendahuluan, hasil diameter zona bening dengan ukuran terkecil terdapat pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm. Oleh karena itu, batas bawah konsentrasi ekstrak yang

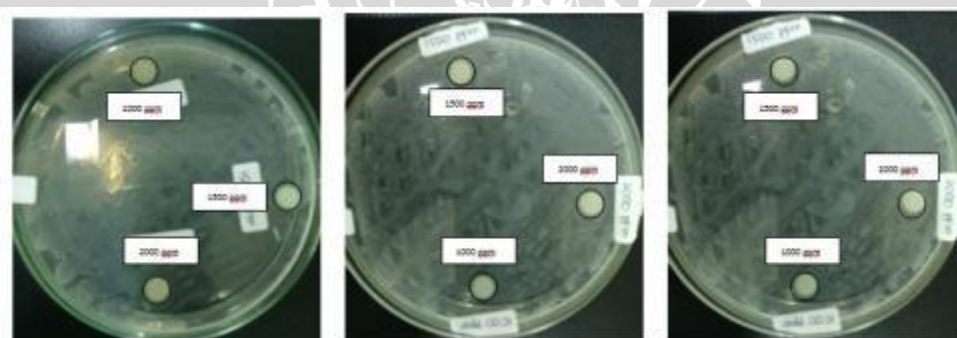
digunakan adalah 1000 ppm. Peningkatan konsentrasi selanjutnya disesuaikan dengan deret aritmetika agar hasil diameter zona bening yang terbentuk dapat dianalisis dengan baik dan menghasilkan data yang akurat. Tabel 5 menunjukan Diameter zona bening yang terbentuk dari lendir *Terebralia sulcata*.

Tabel 5. Data Diameter Zona Bening Lendir *Terebralia sulcata*

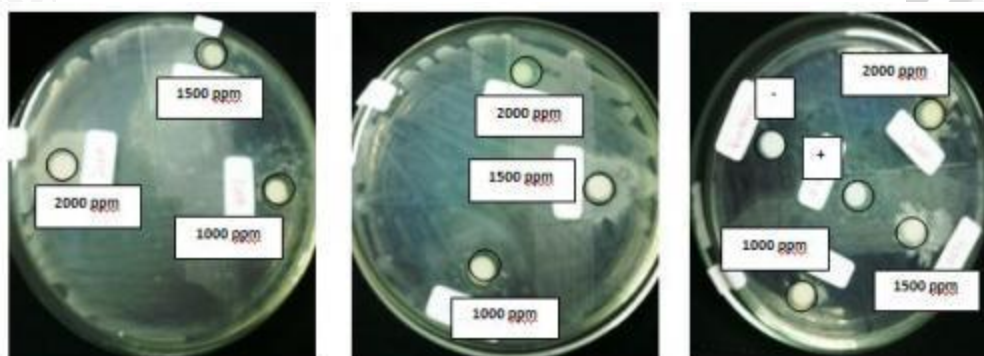
Sampel	1000 ppm	1500 ppm	2000 ppm
<i>Staphylococcus aureus</i>			
12000 g	-	-	1,06
15000 g	-	-	-
18000 g	0,4	1,06	1,06
<i>Eschreichia coli</i>			
12000 g	2,03	0,1	1,03
15000 g	2,07	2,01	2,04
18000 g	-	-	-
Kontrol (+)	11,02		
Kontrol (-)	0		

Dalam satuan mm.

Hasil diameter zona bening yang terbentuk memiliki rentang antara 2,07 mm – 0,4 mm baik pada *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli*. Gambar 6 dan 7 memaparkan hasil diameter zona bening pada kedua bakteri uji.



Gambar 8. Hasil diameter zona bening *Staphylococcus aureus*



Gambar 9. Hasil Diameter Zona Bening *Escherichia coli*

Diameter zona bening untuk *Staphylococcus aureus* pada sampel 18000 g memiliki hasil yang lebih optimum dari sampel lainnya dengan *range* diameter zona bening adalah 0,4-1,06 mm. Menurut Robinson (1995), pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang terhambat akibat senyawa antibakteri disebabkan oleh penghambatan terhadap sintesis dinding sel, fungsi membran sel dan sintesis protein atau penghambatan asam nukleat pada bakteri, pada *Escherichia coli* sampel 15000 g memiliki hasil yang lebih optimum dari sampel lainnya dengan diameter zona bening yang dihasilkan adalah 2,01-2,04 mm. Menurut Hua *et al.* (2009) mekanisme penghambatan peptida terhadap bakteri gram negatif dimulai dengan terbentuknya asosiasi peptida dengan kelompok lemak. Lapisan lemak pada membran luar bakteri akan rusak dan kinerja dari membran sitoplasma bakteri akan terganggu. selain mekanisme penghambatan bakteri proses sentrifugasi juga mempengaruhi hasil dari bahan uji, kecepatan proses sentrifugasi mempengaruhi kualitas peptida yang dihasilkan, Sentrifugasi dengan kecepatan tinggi dapat mengakibatkan proses pemisahan sempurna dari komponen tak larut dengan media cair. Hal ini mengakibatkan senyawa kimia dan protein yang terkandung pada daging larut dalam lendir.

Berdasarkan Dewi *et al.* (2010) kecepatan sentrifugasi sangat berpengaruh terhadap hasil ekstrak. Semakin cepat putaran sentrifugasi, maka proses pemisahan senyawa kimia akan lebih sempurna dan berpengaruh terhadap kualitas ekstrak. Hasil yang didapatkan ini juga sesuai dengan penelitian Mulyadi *et al.* (2013) yang menjelaskan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan peningkatan diameter zona bening yang terbentuk pada uji antibakteri. selain itu variasi kecepatan pada proses sentrifugasi dilakukan untuk mendapatkan hasil kualitas protein yang optimum sehingga memberikan hasil yang diinginkan. Menurut Pearlindah *et al.* (2005)

teknik isolasi sentrifugasi dengan menggunakan variasi kecepatan yang berbeda dilakukan untuk menghasilkan modifikasi isolasi peptida yang stabil dan murni. Kategori penghambatan mikroba berdasarkan diameter zona bening menurut Maghriby *et al.* (2010) dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kategori penghambatan mikroba berdasarkan zona bening

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
0-3	Lemah
3-6	Sedang
>6	Kuat

Berdasarkan tabel klasifikasi respon hambatan pada Tabel 5, lendir *Terebralia sulcata* memiliki respon hambatan yang tergolong lemah dengan range diameter zona bening 1-3 mm. Lemahnya kemampuan isolat peptida lendir *Terebralia sulcata* dalam melakukan penghambatan bakteri uji menurut Lehninger (1982) dikarenakan belum dilakukannya proses pemisahan peptida dari protein awal secara optimum. Peptida dapat dipisahkan dari campuran kompleks lainnya dengan menggunakan kromatografi pertukaran ion yang didasarkan atas perbedaan tingkah laku asam basa dan polaritasnya, selain itu pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Berniyanti dan Suwarno (2007) menunjukkan bahwa komponen peptida lendir gastropoda *Achasin* dapat terdeteksi dengan pelarut air, sehingga peptida antimikroba yang terdapat pada lendir gastropoda dapat terabsorb dengan maksimal.

4.4 Hasil Uji Sitotoksik

uji sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), hewan uji yang digunakan adalah larva *Artemia salina leach*. Metode BSLT digunakan karena hasil yang didapat cukup akurat dan prosesnya cepat. Menurut Oratmangun *et al.* (2014) metode BSLT untuk uji sitotoksik memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker. Metode ini

dilakukan dengan menentukan besarnya LC_{50} selama 24 jam, suatu ekstrak hasil isolasi yang memiliki nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{mL}$ diduga memiliki efek sitotoksik.

Artemia salina merupakan hewan uji yang digunakan dalam metode BSLT. *Artemia salina* memiliki keunggulan antara lain dapat bertahan dalam kondisi kering, dapat disimpan cukup lama dan proses penentasan yang cukup mudah, larva *Artemia salina* diperdagangkan dalam bentuk telur atau kista dengan morfologi kista berbentuk bulat-bulat kecil kecoklatan dengan diameter ± 300 mikron (Inayah *et al.*, 2012). Penentuan variasi konsentrasi ekstrak lendir *Terebralia sulcata* didasarkan pada hasil uji pendahuluan. Pada uji pendahuluan, larva *Artemia salina* yang mati dengan jumlah terkecil terdapat pada konsentrasi ekstrak lendir 30 ppm. Peningkatan konsentrasi selanjutnya disesuaikan dengan deret aritmatika agar hasil dan analisis dapat dilakukan dengan baik. Tabel 7 memaparkan jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada tiap konsentrasi pengujian.

Tabel 7. Jumlah Larva *Artemia salina* yang Mati Pada Tiap Sampel

Sampel	Uji	7,5 ppm	15 ppm	30 ppm
12000 g	I	1	5	6
	II	4	5	6
	III	6	5	8
Rata-Rata	Σ	3,6	5	6,6
15000 g	I	5	5	6
	II	5	6	6
	III	5	6	6
Rata-Rata	Σ	5	5,6	6
18000 g	I	5	6	6
	II	5	6	7
	III	5	8	9
Rata-Rata	Σ	5	6,6	7,3

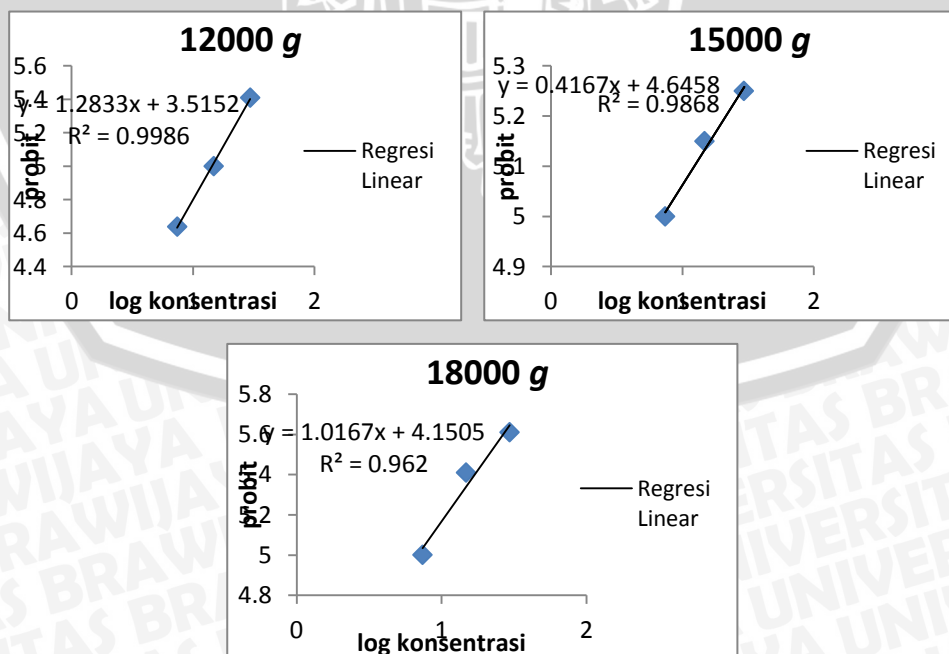
Analisis data mortalitas hewan uji dilakukan dengan menggunakan LC_{50} . Menurut Juniarti *et al.* (2009) LC_{50} merupakan konsentrasi zat yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sebanyak 50%, data mortalitas hewan uji

merupakan acuan untuk menghitung nilai *lethal concentration* dengan analisa probit. Hubungan nilai logaritma dari konsentrasi bahan uji dengan nilai probit dari persentase mortalitas hewan uji dapat dihitung dengan fungsi linier $y=a+bx$. Tabel 8 memaparkan Nilai LC_{50} Sampel Lendir *Terebralia sulcata* berdasarkan variasi kecepatan.

Tabel 8. Nilai LC_{50} Sampel Lendir *Terebralia sulcata*

Sampel	Konsentrasi	Log Konsentrasi (sumbu x)	Mortalitas (%)	Probit (sumbu y)	LC_{50} (ppm)
12000 g	7,5	0,87	36	4,64	14,369
	15	1,17	50	5	
	30	1,47	66	5,41	
15000 g	7,5	0,87	50	5	7,134
	15	1,17	56	5,15	
	30	1,47	60	5,25	
18000 g	7,5	0,87	50	5	6,864
	15	1,17	66	5,41	
	30	1,47	73	5,61	

Persamaan regresi linear yang didapatkan dari tiap sampel ekstrak daging *Terebralia sulcata* kemudian dicari nilai antilog LC_{50} yang didapat. Persamaan regresi linear tiap sampel lendir *Terebralia sulcata* dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 10. Persamaan regresi linear tiap sampel lendir *Terebralia sulcata*

Hasil uji sitotoksik terhadap ketiga sampel *Terebralia sulcata* dengan menggunakan metode BSLT menunjukkan bahwa ketiga sampel memiliki aktivitas toksik yang tinggi. Tabel 9 menunjukkan hasil LC₅₀ lendir *Terebralia sulcata*.

Tabel 9. Hasil LC₅₀ lendir *Terebralia sulcata*

No	Sampel	LC ₅₀ (ppm)	Keterangan	Kategori nilai LC ₅₀ (ppm)
1	12000 g	14,369	Sangat toksik	<30 (sangat toksik)
2	15000 g	7,134	Sangat toksik	30-100 (toksik)
3	18000 g	6,864	Sangat toksik	100-1000 (toksisitas rendah)

Pada tabel tersebut menunjukkan semakin kecil nilai LC₅₀ semakin besar toksisitasnya. Menurut Suryaningrum *et al.* (2007) senyawa dikatakan sangat toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ lebih kecil atau sama dengan 30 ppm. Mekanisme penghambatan peptida antikanker terhadap larva uji menurut Yunita *et al.* (2009) adalah peptida antikanker sebagai zat toksik masuk melalui dinding tubuh larva uji, dinding tubuh larva uji menyerap zat toksik dalam jumlah besar dan hal ini mengakibatkan gejala kematian pada larva uji. Zat toksik pada peptida antikanker relatif lebih mudah menembus kutikula dan selanjutnya masuk kedalam tubuh larva uji. Nilai LC₅₀ dan potensinya menurut Inayah *et al.* (2012) dapat dilihat pada Tabel 10.

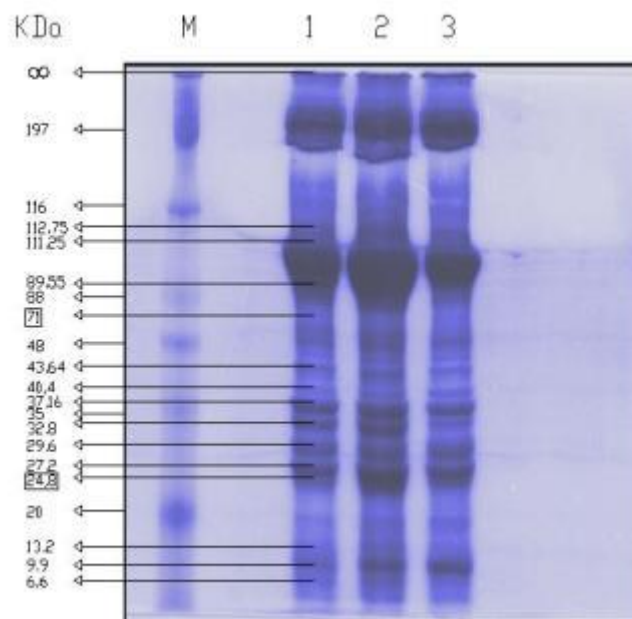
Tabel 10. Nilai LC_{50} dan potensinya

Nilai LC_{50} (ppm)	Potensi
< 30	Sitotoksik (antikanker)
30 – 150	Antibakteri
150 – 1000	Pestisida

Berdasarkan potensi analisis hasil perhitungan nilai LC_{50} Keseluruhan sampel menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker hal tersebut didukung dengan pernyataan Inayah *et al.* (2012) suatu sampel berpotensi sebagai antikanker jika memiliki nilai $LC_{50} < 30$ ppm. Menurut Handayani *et al.* (2011) Suatu isolat dikatakan aktif sitotoksik bila nilai $LC_{50} < 30$ ppm. perlu adanya proses purifikasi dan uji lanjutan yang harus dilakukan untuk optimalisasi kemampuan antikanker suatu bahan uji.

4.5 Hasil Uji Elektroforesis

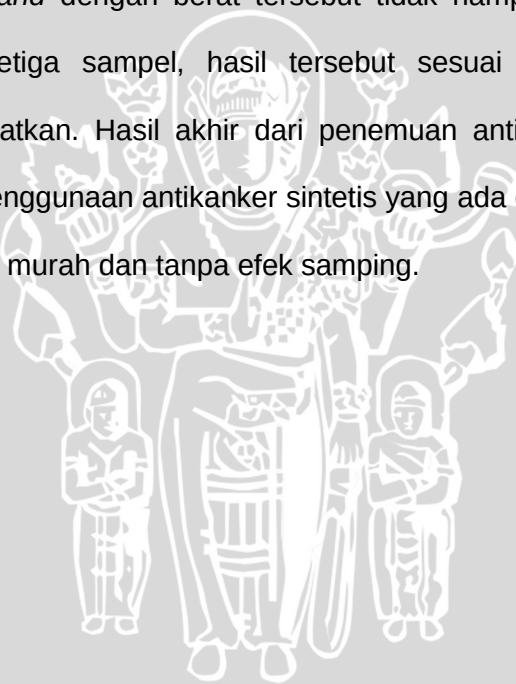
Uji elektroforesis dilakukan dengan menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium dodecyl polyacrilamide gel electrophoresis*) untuk mendapatkan pita dominan dengan berat molekul tertentu. Proses karakterisasi menggunakan *separating gel* 10% dan *stacking gel* 3%. Menurut Mahasri *et al.* (2010) metode SDS-PAGE pada dasarnya digunakan untuk mengkarakterisasi protein dari suatu biota, sehingga didapatkan pita dominan yang selanjutnya dianalisis berdasarkan berat molekul protein yang terkandung. Hasil elektroforesis berupa pita dominan (*band*) yang kemudian dihitung nilai R_f (*Retardation factor*) untuk mendapatkan nilai atau berat peptida yang diinginkan. Gambar 12 menunjukkan hasil elektroforesis dengan SDS-PAGE lendir *Terebralia sulcata*.



Gambar 11. Hasil uji elektroforesis sampel dengan kecepatan (1) 12000 g, (2) 15000 g, (3) 18000 g

Hasil elektroforesis dengan SDS-PAGE menggunakan pengecatan dengan CBB (*comassie brilliant blue*) pada ketiga sampel menunjukkan 6 pita peptida dominan yaitu 24,8 kDa, 27,2 kDa, 29,6 kDa, 32,8 kDa, 37,16 kDa, 89, 55 kDa dan 9 pita peptida dengan intensitas rendah yaitu 6,6 kDa, 9,9 kDa, 13,2 kDa, 20 kDa, 40,4 kDa, 43,64 kDa, 48 kDa, 88 kDa, 116 kDa. Menurut Hersoelistyorini dan Dewi (2009) tebal tipisnya pita peptida yang dihasilkan menunjukkan banyak sedikitnya kandungan peptida yang terdapat pada suatu sampel. Pada ketiga sampel didapatkan *band* dengan berat 24,8 kDa cenderung dominan, pada sampel 18000g *band* tersebut terlihat sangat jelas hal tersebut berdampak pada hasil sitotoksik yang menunjukkan nilai LC_{50} sampel 18000g lebih kecil dibandingkan dengan sampel lainnya. *Band* dengan berat 24,8 kDa diidentifikasi merupakan peptida yang memiliki kemampuan antikanker atau aktivitas sitotoksik. Hal tersebut sama dengan penelitian yang dilakukan Tarman *et al.* (2012) dalam pengembangan peptida antikanker dari kapang endofit indigenous laut, band dengan berat $\pm 20-25$ kDa berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik.

Menurut Purbasari (2008) pada peptida dengan berat 24 kDa terdapat enzim glutathione yang berfungsi sebagai katalis reaksi konjugasi racun dengan metabolit endogenous. Menurut Martono (2007) enzim glutathione merupakan hasil sampingan dari reaksi glikolisis yang memiliki efek inhibisi dan mungkin bersinergi dengan sel dan dapat meningkatkan keefektifan kemoterapi, sedangkan turunan dari enzim glutathione dilaporkan sebagai inhibitor spesifik yang telah digunakan dalam terapi tumor. Sedangkan peptida yang memiliki aktifitas antibakteri terdapat pada *band* dengan berat 71 kDa, menurut Berniyanti dan Suwarno (2007) peptida dengan berat 71,3 kDa memiliki potensi sebagai aktivitas antibakteri. *Band* dengan berat tersebut tidak nampak pada hasil uji elektroforesis pada ketiga sampel, hasil tersebut sesuai dengan hasil uji antibakteri yang didapatkan. Hasil akhir dari penemuan antikanker ini adalah untuk menggantikan penggunaan antikanker sintetis yang ada dengan antikanker alami yang lebih aman, murah dan tanpa efek samping.



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat pada penelitian skripsi ini adalah :

1. Kemampuan lendir *Terebralia sulcata* dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tergolong lemah, hasil diameter zona bening sampel 18000 g terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki nilai diameter zona bening dengan rentang 0,2-1,6 mm, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* hasil diameter zona bening pada sampel 15000 g memiliki nilai diameter zona bening dengan rentang 1,06-2,07 mm.
2. Hasil sitotoksik terhadap tiga sampel membuktikan lendir *Terebralia sulcata* dapat digunakan sebagai senyawa antikanker. Mortalitas dari ketiga sampel dengan variasi kecepatan sentrifugasi memiliki nilai L_{C50} yang kurang dari 30 ppm berkisar 6,864-14,369 ppm dan dikategorikan dalam *high toxicity*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil uji antibakteri dan sitotoksik yang dilakukan, sampel lendir *Terebralia sulcata* harus melalui tahap purifikasi agar menghasilkan isolat protein dengan kemampuan antibakteri dan sitotoksik yang optimum.

DAFTAR PUSTAKA

- Abarrategui, C. L., Alba, A., Silva, O. N., Acosta, O. R., Vasconcelos, I. M. 2012. Functional Characterization of a Synthetic Hydrophilic Antifungal Peptide Derived from The Marine Snail *Cenchritis muricatus*. *Biochimie* Vol. 94 (2012), page: 968-974.
- Ali, A, Hala., Darminto. 2006. Penapisan dan Karakterisasi Parsial Senyawa Antimikroba dari Siput Bakau dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Aktif. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Makasar, Penel Hayati Vol. 12 (2006), hlm : 63-68.
- Amkas. 2004. Units and Conversions. <http://www.cas-lab.com/resources/conversions.html>. Diakses pada tanggal 7 Januari 2015 pukul 05.13 WIB.
- Aneiros, A., Garateix, Anoland. 2004. Bioactive Peptides From Marine Source : Pharmacological properties and isolation procedures. Center of Marine Bioactive Substance. Ministry of Science Technology and Enviroment. *Journal of Cromatography*, page : 44.
- Annisa. 2014. *Pantai Clungup*. <http://www.seputarmalang.com/info/wisata/wisata-alam/pantai-clungup/12069>. Diakses pada tanggal 3 Desember 2014 pukul 07.50 WIB
- Ariani, S. R. 2004. Studi Keanekaragaman dan Kelimpahan Gastropoda di Suaka Margasatwa Pulau Rambut, DKI Jakarta. Bogor: Skripsi, Departemen Sumberdaya Hutan, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor.
- Arif, R. 2014. *Pantai Clungup*. http://unsub.gllandgroup.co.id_b.php?_b=info&id=69244. Diakses pada tanggal 3 Desember pukul 08.18 WIB
- Berniyanti., Suwarno.2007. Karakterisasi Protein Lendir Bekicot (*Achasin*) Isolat Lokal sebagai Faktor Antibakteri. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga : Surabaya.
- Born. 1778. WoRMS Taxon Details for *Terebralia sulcata*. <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=216724>. Diakses pada tanggal 16 Mei 2015 pukul 07.31 WIB.
- Dali, S., Natsir, H., Usman, H., Ahmad, A. 2011. Bioaktivitas Antibakteri Fraksi Protein Alga Merah *Gelidium amansii* dari Perairan Cikoang Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan. *Jurnal kimia* Vol. 6 (2011), hlm: 138-147.
- Dewi, K. H., Silsia, D., Susanti, L., Markom, M., Yanti, E. N. 2010. Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi Pada Proses Pemisahan Hasil Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Sebagai Sumber Testosteron Alami dan Antigen. Bengkulu: Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu.

- Djauhari, P. 2012. Daya Hambat Ekstrak Bawang Putih. Surabaya: Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga.
- Ernest, J. 1996. Mikrobiologi Kedokteran edisi 20, : EGC : Jakarta
- Fatchiyah., Arumingtyas, E. A., Widyarti., Rahayu. S. 2011. Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis. Jakarta: Erlangga.
- Handayani, D., Yulia, M., Allen, Y., Voogd, N. J. 2012. Isolasi Senyawa Sitotoksik dari Spons Laut *Petrosia* sp. Jurnal Perikanan Vol 7 (2012), hlm. 69-76.
- Hersoelistyorini, W., Dewi, Sri. 2009. Identifikasi Protein Bakteri Probiotik Asal Limbah Kubis dan Sawi Berdasarkan Elektroforesis SDS-PAGE. Semarang : Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhamadiyah Semarang.
- Houbrick, R. S. 1991. Systematic Review and Functional Morphology Of The Mangrove Snails Terebralia and Telescopium (*Potamididae; Prosobranchia*). Malacologia Journal Vol. 33 (1991), page: 289-338.
- Hua, L. C., Min, Z.J., Sheng, S.L. 2009. A Review of Advance in Research on Marine Molluscan Antimicrobial Peptides and Their Potensial Application in Aquaculture. Molluscan Research Vol 29 (2009), page : 289-338.
- Huda, N. 2001. Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-Vis GBC 911A Menggunakan Pewarna Tartrazine CL 19140. Batan: Bidang Evaluasi dan Pengembangan Keselamatan Instalasi P2TKN, Batan.
- Ihtiarto, S. 2011. Ekstraksi Pemurnian dan Uji Aktivitas Antibakterial Racun Duri *Anchaster planci* perairan Maluku dan Papua. Depok : Departemen Kimia, Universitas Indonesia.
- Inayah, N., Ningsih, R., Adi, T. K. 2012. Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol dan N-heksana Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Kering Pantai Kenjeran Surabaya. Alchemy Vol. 2 (2012), hlm: 92-100.
- Jumiarti, P. 2013. Pemurnian dan Karakterisasi Protein Insektisidal dari Bakteri Entomopatogen *Serratia marcescens*. Bogor : Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Juniarti., Osmeli, D., Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-38 pikrilhydrazyl) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.). Makara, Sains Vol. 13 (2009), hlm: 50-54.
- KEPMEN-LH. 2004. Baku Mutu Air Laut Untuk Biota. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004

Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Malang : Skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Kusuma, S. A. F. 2009. *Staphylococcus aureus*. Bandung : Makalah Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.

Lehninger, A. L. 1982. Dasar Dasar Biokimia. Jakarta: Erlangga.

Maghriby, H. R., Sarwiono., Surjowardojo, P. 2010. Inhibition Potential of *Muntingia calabura* L. Leaves Water Extract to Growth of Gram-Positive Bacteria *Staphylococcus aureus* and Gram-Negative *Escherichia coli* That Cause Mastitis Disease in Dairy Cows. Malang: Jurnal Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya.

Mahasri, G., Fajriah, Ulia., Subekti, Sri. 2010. Karakterisasi Protein *Lernaea syprinacea* Dengan Metode Elektroforesis SDS-PAGE. Surabaya : Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan . Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga vol. 2, hlm : 61-64.

Martono, S. 2007. Penggunaan Inhibitor Glutathione S-Transferase Sebagai Modulator Efektivitas Pengobatan. Yogyakarta : Pengukuhan Guru Besar, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

Meliawati, R. 2009. *Escherichia coli* Dalam Kehidupan Manusia. Bio Trends Vol. 4 (2009), hlm : 1-2.

Michael, J., Ghomashchii., Gelbi. 2011. Conodipine-M, a Novel Phospholipase A2 Isolated from the Venom of the Marine Snail *Conus magus*. Journal of Biological Chemistry vol 270 (2011), page : 7-8.

Mulyadi, M., Wuryanti., Ria, P. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. Journal of Chem Info Vol 1 (2013), hlm: 35 – 42.

Narwiyani, S. 2013. Lethal Concentration 50% (LC-50) Empat Isolat *Edwardsiella tarda* pada Ika Air Tawar di Indonesia. Makasar : Balai Besar Karantina Ikan, Hsanudin.

Nasution, S. 2001. Metode Research (Penelitian Ilmiah). Jakarta: Bumi Aksara.

Nurjanah., Izzati, L., Abdullah, A. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*). Jurnal Ilmu Kelautan Vol. 16 (2011), hlm: 119-124.

Oratmangun, S., Fatimawati., Bodhi, Widdhi. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang Terhadap *Artemia salina* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Sebagai Studi Pendahuluan Potensi

Antikanker. Manado : Jurnal Ilmiah Farmasi Program Studi Farmasi FMIPA, Universitas Samratulangi. vol 3 (2014), hlm : 2-3.

Pearlindah., Listyorini, D., Gofur, A. 2005. Optimalisasi Isolasi RNA Jaringan Kanker Payudara Terfiksasi dari Penderita Kanker Payudara di Rumah Sakit Saifu Anwar Malang dengan KLT Isolasi RNA Geneaid. Malang : Jurnal Kesehatan, Universitas Negeri Malang.

Puji, A., Sukardiman., Ningsih, Tri. 2010. Uji Sitotoksitas dan Efek Ekstrak Spons Laut Terhadap Sel Kanker Payudara Secara Invitro. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sepuluh November.

Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Bogor : Skripsi, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Purwandani, F. 2012. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Amilase dan Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi pada Berbagai Variasi Suhu dan pH. Yogyakarta: Skripsi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.

Putri, M. K. D., Pringgenies, D., Radjasa, O. K. 2012. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda (*Telescopium telescopium*) Terhadap Larva *Artemia salina*. Journal of marine research Vol. 1 (2012), hlm: 58-66.

Radji, M., Sari, R. C., Sumiati, A. 2008. Uji Aktivitas Antimikroba dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* linn), Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa (sheff) Boerl*) dan Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus lam*). Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. 5 (2008), hlm: 40 – 46.

Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB : Bandung.

Siradju, S. 2013. Keanekaragaman Jenis Anggota Gastropoda di Hutan Mangrove Taman Nasional Baluran Jawa Timur. Yogyakarta: Thesis, Program Studi Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah mada.

Sumarko., Sujoko. 2011. Karakterisasi Penerimaan Konsumen dan Mutu Kerupuk Siput Bakau (*Terebralia sulcata*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universtas Riau. Pekanbaru : Jurnal Perikanan dan Kelautan vol. 15 (2011), hlm : 51.

Sumarto., Desmelati., Dahlia., Hasan, B., Azwar, M. 2011. Penentuan Senyawa Bioaktif Ekstrak Daging Siput Bakau (*Terebralia sulcata*) dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Berkala Perikanan Terubuk Vol. 39 (2011), hlm 85 – 96.

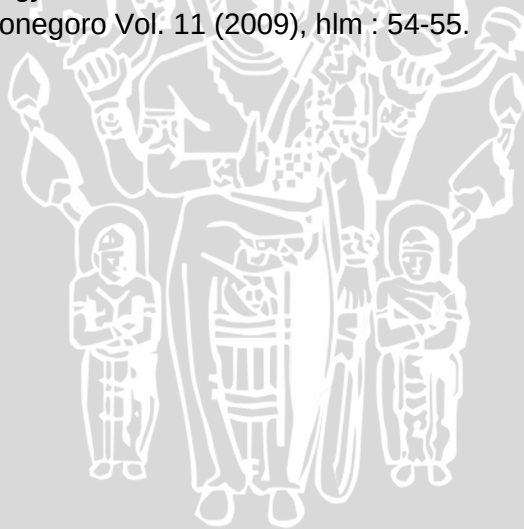
Suryaningrum, T., Pramadhany, Wizza., Wikanta, Thamrin. 2007. Penapisan Senyawa Antibakteri dan Tokssitas dari Spons Asal Perairan Pulau Borneate Sulawesi Selatan. Institut Pertanian Bogor Vol. 2 (2007), hlm : 49-50.

Susanti, E., Kamarullah., Alfian. 2010. Uji Senyawa Sitotoksitas dari Tumbuhan Akar PKI (*Mikania micrantha*). Pekanbaru : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.

Tarman, K., Mustopa, Zaenal., Safitri, Mega. 2012. Pengembangan Protein Antikanker dari Kapang Endofit *Indigenous* Laut Indonesia *Xylaria psidii* KT30. Bogor : Departemen Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Wijaningsih, W. 2008. Aktivitas Antibakteri InVitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermetasi. Semarang : Tesis, Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro.

Yunita, E., Suprpti, Nanik., Hidayat, Jafron. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) Terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegyti*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro Vol. 11 (2009), hlm : 54-55.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Waktu Pelaksanaan S Penelitian kripsi

No	Kegiatan	Maret				April				Mei			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1	Penyusunan Proposal												
2	Survey Lapang												
3	Pengambilan Sampel												
4	Penelitian Laboratorium												

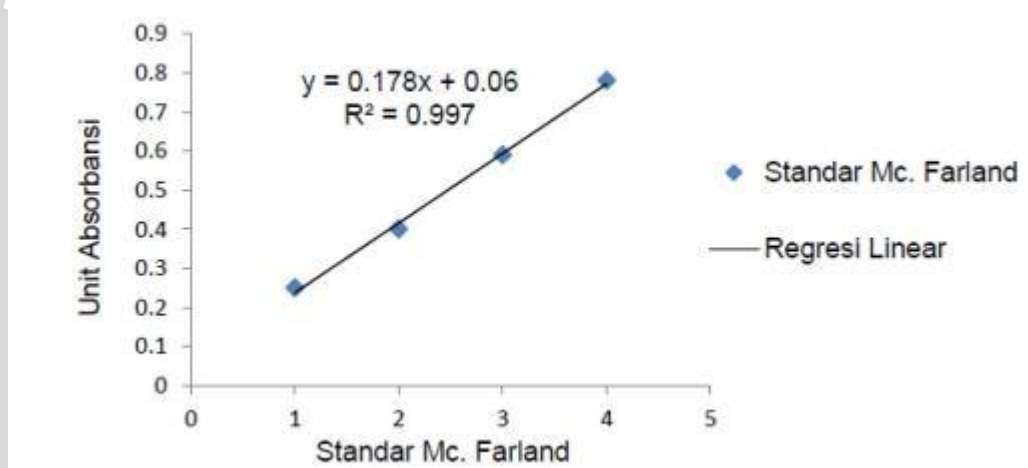


Lampiran 2. Standar Kepekatan Mc. Farland dan Unit Absorbansi

Standar Mc. Farland	Unit Absorbansi
1	0,25
2	0,4
3	0,59
4	0,78

Nilai standar Mc. Farland dan unit absorbansi diperlukan untuk mengetahui persamaan regresi linear dari keduanya. Regresi linear dari nilai standar Mc. Farland dengan unit absorbansinya digunakan untuk perhitungan standar kepekatan kultur bakteri uji.

Lampiran 3. Persamaan Regresi Linear Standar Mc. Farland



Setelah mendapatkan persamaan regresi linearnya, langkah selanjutnya adalah mengonversi nilai standar Mc. Farland tersebut ke nilai kepekatan bakteri 10^8 CFU/mL.

Lampiran 4. Konversi Nilai Standar Mc. Farland ke Nilai Kepekatan Bakteri Konversi nilai standar Mc. Farland ke nilai kepekatan bakteri berdasarkan Coulter dan Shim (2009)

Standar	Kepekatan Bakteri 10 ⁸ CFU/mL
0,5	1,5
1	3
2	6
3	9
4	12
5	15
6	18
7	21
8	24
9	27
10	30

Nilai absorbansi kultur *Staphylococcus aureus* 2,5 sedangkan *Escherichia coli* 1,1

Lampiran 5. Data Diameter Zona Bening Pada Kedua Bakteri Uji dengan Pengulangan Duplo

Sampel	1000 ppm	1500 ppm	2000 ppm	1000 ppm	1500 ppm	2000 ppm	Kontrol (+)
<i>Staphylococcus aureus</i>							
12000 g	-	-	1,06	0,1	1,02	4,02	11,02
15000 g	-	-	-	-	1,02	2,03	
18000 g	0,4	1,06	1,06	0,2	1,02	-	
<i>Escherichia coli</i>							
12000 g	-	-	0,1	2,03	0,1	1,03	13,05
15000 g	-	1,06	-	2,07	2,01	2,04	
18000 g	-	1,04	-	-	-	-	

Lampiran 6. Tempat Pengambilan Sampel dan Preparasi Sampel *Terebralia Sulcata*



Lampiran 7. Uji Aktivitas Antibakteri dan Sitotoksik

