

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FRAKSI METANOL TERIPANG HITAM (*Holothuria atra*)
TERHADAP BAKTERI *Vibrio cholerae***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh :
ARY ANGGARA PUTRA
NIM. 105080300111039



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

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FRAKSI METANOL TERIPANG HITAM (*Holothuria atra*)
TERHADAP BAKTERI *Vibrio cholerae***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

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

Oleh :
**ARY ANGGARA PUTRA
NIM. 105080300111039**



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

SKRIPSI
ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
FRAKSI METANOL TERIPANG HITAM (*Holothuria atra*)
TERHADAP BAKTERI *Vibrio cholerae*

Oleh :
ARY ANGGARA PUTRA
NIM. 105080300111039

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 18 Februari 2015
dan telah dinyatakan memenuhi syarat

SK Dekan no. : _____

Tanggal : _____

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Kartini Zailanie, MP
NIP. 19550503 198503 2 001
Tanggal :

Ir. Darius M. Biotech
NIP. 19500531 198103 1 003
Tanggal :

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal :

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 19640726 198903 2 004
Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

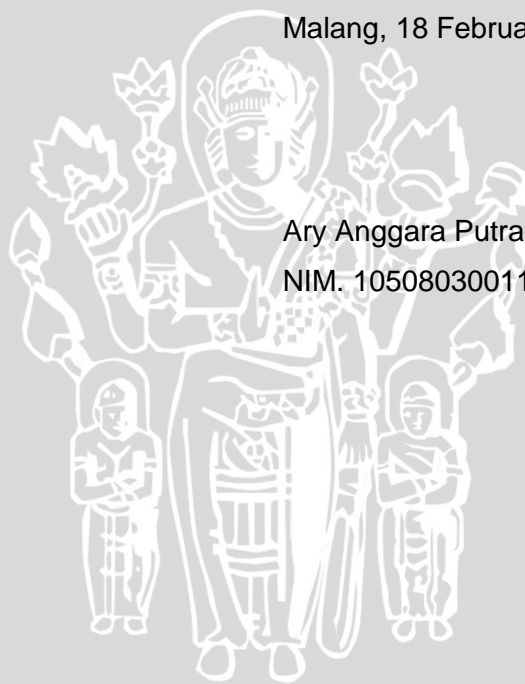
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar 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, 18 Februari 2015

Ary Anggara Putra

NIM. 105080300111039



UCAPAN TERIMAKASIH

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, nikmat dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi ini. Shalawat serta Salam tidak lupa penulis curahkan kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW beserta iringan doa kepada keluarga, sahabat dan seluruh pengikut setianya hingga akhir zaman.

“Kita tidak bisa berdiri tanpa terjatuh dahulu dan pengalaman membuat kita bisa berjalan. Semua tidak lepas karena kebiasaan dan kesabaran.”

Penulis menyadari dalam penyusunan laporan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan rendah hati dan penuh keikhlasan, tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua (Alm. Witoyo di surga dan Sartiyah), Adek Satriyo, Adek Safira serta segenap anggota keluarga Kertosono dan Kroya yang telah memberi dorongan semangat dan doa. Begitu banyak pengorbanan yang telah kalian lakukan demi mewujudkan seorang Sarjana di keluarga kita. Semoga dengan keikhlasan dan kasih sayang kalian, cita-cita kalian dari seorang Sarjana ini bisa terwujud. Amin
2. Ir. Darius M. Biotech selaku dosen pembimbing 1 yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dengan penuh kesabaran serta dukungan moril dan materil sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
4. Dr. Ir. Kartini Zailanie, MP dan Dr. Ir. Happy Nursyam, MS, selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
5. Keluarga besar Om Sandy, Om Dwi Indrawan, dan Bude Nikmah serta orang-orang yang sangat baik dan penuh ikhlas membantu penulis dalam menyelesaikan kuliah.
6. Fatiah Rastra dan Keluarga, yang selalu setia mendampingi penulis dan banyak berkontribusi demi terselesaikannya laporan Skripsi ini.

7. Keluarga besar Barokah Chapter Malang (Taslim, Gustaf, Midun, Cadoy, Bayu, Fadlan dan lain-lain), yang selalu setia membantu bertahan hidup di rantau.
8. Sahabat tak terlupakan Adi Citra Prabowo (Kating), Refa Zain Arsyadana (Wa.Kahim), Haris Rahmadien (Presidium) dan jajaran pengurus HIMATHRIK 2010. Begitu besar arti kehidupan dengan kehadiran kalian dan kita yang terhebat.
9. Sahabat-sahabat tercinta THP angkatan 2010, yang selalu setia memberi motivasi, semangat, doa serta keceriaan. Rasa berhutang budi penulis begitu besar dan tidak akan terlupakan, semoga kelak kita lebih bisa menjadi orang berguna bagi keluarga, masyarakat dan negara.
10. Keluarga besar Himathrik, yang telah memberi banyak ilmu dan pengalaman berorganisasi. Semoga Himathrik semakin jaya dengan kekeluargaan yang erat.
11. Segenap tim asisten praktikum Ichtyologi, Mikdas, Mikpang, Tfpp, Metanal, dan Gizi, yang telah banyak memberikan ilmu dan mau bekerja sama dalam tim.
12. Ibu Iwin selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi, yang selalu membantu dan memudahkan dalam proses penelitian.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhirnya, kesempurnaan hanya milik Allah SWT dan kekurangan hanya milik kita sebagai manusia, sehingga penulis menyadari laporan Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dalam memberikan informasi bagi pihak yang membutuhkan.

Malang, 18 Februari 2015

Penulis

RINGKASAN

Ary Anggara Putra (NIM 105080300111039). Skripsi tentang Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Metanol Teripang Hitam (*Holothuria atra*) terhadap Bakteri *Vibrio cholerae* (di bawah bimbingan **Ir. Darius, M. Biotech** dan **Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS**)

Kolera merupakan salah satu wabah *foodborne disease* yang disebabkan oleh bakteri pathogen *Vibrio cholerae*. Kolera dapat menyebabkan kematian apabila tidak ditangani secara dini sehingga perlunya upaya mendapatkan bahan alami yang dapat digunakan untuk menghambat bakteri *Vibrio cholerae*. Salah satu sumber bahan alami yang memiliki aktivitas antimikroba yaitu teripang. Teripang sudah digunakan sejak lama sebagai makanan yang berkasiat oleh etnis Cina. Teripang ini memiliki bahan aktif antara lain antimikroba, antikanker, antijamur, dan antiinflamasi. Salah satu jenis teripang yang banyak di Indonesia adalah *Holothuria atra*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *H. atra* terbaik untuk menghambat *V. cholerae* serta mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam *H. atra*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Kimia PUSPITEK LIPI Serpong pada Mei sampai September 2014.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Dalam penelitian ini terdapat 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi ekstraksi, isolasi dengan kromatografi kolom dan KLT, serta uji aktivitas antibakteri untuk mencari fraksi terkatif. Penelitian utama meliputi uji daya hambat fraksi terkatif dan identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FTIR dan LCMS. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu untuk penelitian pendahuluan digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan 2 faktorial dengan 3 ulangan dan untuk penelitian utama digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana dengan 6 ulangan.

Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi dari fraksi metanol *Holothuria atra* yang memberikan daya hambat terbaik terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* terdapat pada konsentrasi 6 mg/ml atau 6000 ppm dengan zona hambat rata-rata yang dihasilkan yaitu $3,88 \pm 0,33$ mm. Hasil identifikasi senyawa dengan spektrofotometri UV-Vis, FT-IR, dan LC-MS ESI (+) menunjukkan bahwa terdapat serapan pada λ^{\max} 233 nm dan berat molekul sanyawa dugaan sebesar 476 m/z (Rt 1,9) dan 764 m/z (Rt 4,1). Kemudian gugus-gugus yang terbentuk yaitu O-H, C-O, C=O, C=C, CH₂, dan CH₃. Dengan demikian diduga senyawa tersebut adalah senyawa golongan triterpenoid dan berperan dalam memberikan aktivitas antibakteri.

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan isolat murni *H. atra* dengan metode MIC dan MBC untuk mengetahui potensi bakteriostatik maupun bakteriosidal. Disarankan untuk mengidentifikasi senyawa pada *H. atra* menggunakan analisis NMR.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Alhamdulillahirabbilamin. Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala berkah, rahmat serta karunia-Nya yang tiada terkira sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi dengan judul "Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Metanol Teripang Hitam (*Holothuria atra*) terhadap Bakteri *Vibrio cholerae*". Dalam penyusunannya, penulis banyak mengambil literatur-literatur yang bersumber dari *text book*, artikel, jurnal, maupun prosiding seminar untuk dijadikan tinjauan pustaka yang dapat mendukung pembuatan laporan Skripsi tersebut. Selain itu, penulis juga memperoleh banyak bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga segala informasi, ilmu dan materi terkait bahasan laporan Skripsi dapat dengan mudah diperoleh.

Penulis menyadari dalam laporan Skripsi ini tentunya masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan, baik dari materi maupun teknik penyajian mengingat kurangnya pengetahuan dan pengalaman penulis. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya, terutama para Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Malang, Februari 2015

Penyusun

DAFTAR ISI

RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan Penelitian	4
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Teripang (Holothuridae).....	5
2.1.1 Teripang Hitam (<i>Holothuria atra</i>)	5
2.1.2 Kandungan Senyawa Bioaktif Teripang	7
2.2 Pelarut.....	8
2.2.1 Metanol	9
2.2.2 DMSO (<i>Dimethyl-sulfoxide</i>)	10
2.3 Ekstraksi.....	10
2.4 Aktivitas Antibakteri	11
2.4.1 Uji Aktivitas Antibakteri	12
2.4.2 Mekanisme Penghambatan Antibakteri	13
2.4.3 <i>Vibrio cholerae</i>	14
2.5 Kromatografi Kolom.....	15
2.6 Identifikasi Senyawa Antibakteri	16
2.6.1 Spektrofotometer <i>Ultraviolet Visible</i> (UV-VIS)	16
2.6.2 Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infrared</i> (FT-IR)	17
2.6.3 <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> (LC-MS).....	18
3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Materi Penelitian.....	20
3.1.1 Bahan Penelitian	20
3.1.2 Alat Penelitian	20
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.2.1 Penelitian Pendahuluan.....	22
3.2.1.1 Prosedur Penelitian Pendahuluan.....	24
3.2.1.2 Parameter Uji Penelitian Pendahuluan	28
3.2.2 Penelitian Utama	28
3.2.2.1 Prosedur Penelitian Utama	30
3.2.2.2 Parameter Uji Penelitian Utama.....	31
3.2.3 Analisis Data	31
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Penelitian Pendahuluan.....	32
4.1.1 Ekstraksi <i>Holothuria atra</i>	32
4.1.2 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol <i>Holothuria atra</i>	33
4.1.3 Isolasi Ekstrak Metanol <i>H. atra</i> dengan Kromatografi Kolom	36
4.1.4 Uji Antibakteri Fraksi-Fraksi <i>H. atra</i> terhadap <i>V. cholerae</i>	39

4.2 Penelitian Utama	41
4.2.1 Uji Antibakteri Fraksi Teraktif <i>H.atra</i> terhadap <i>V.cholerae</i>	41
4.2.2 Analisa Senyawa Antibakteri Fraksi Teraktif <i>Holothuria atra</i>	43
4.3 Senyawa Antibakteri <i>H.atra</i> dan Mekanisme Penghambatan	49
5. KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN.....	59



DAFTAR TABEL

Tabel 1 Jenis Pelarut Untuk Ekstraksi Senyawa Aktif 8
 Tabel 2 Karakteristik Pelarut Metanol 9
 Tabel 3 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol *H. atra* 35
 Tabel 4 Fraksi-Fraksi Ekstrak Metanol *H. atra* Hasil Kromatografi Kolom 37
 Tabel 5 (lanjutan Tabel 4) 38
 Tabel 6 Gugus Fungsional Pita Serapan FT-IR Fraksi Teraktif *H. atra*..... 44
 Tabel 7 Senyawa Dugaan Analisa LCMS Fraksi A *H. atra*..... 48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 <i>Holothuria atra</i>	7
Gambar 2 <i>Vibrio cholerae</i>	14
Gambar 3 Diagram Alir Penelitian Pendahuluan	23
Gambar 4 Diagram Alir Penelitian Utama	29
Gambar 5 Ekstraksi <i>H. atra</i>	33
Gambar 6 Uji Fitokimia Ekstrak Metanol <i>H. atra</i>	34
Gambar 7 Kromatografi Kolom Ekstrak Metanol <i>H. atra</i>	37
Gambar 8 Rerata Hasil Zona Hambat dan Uji BNT 5 % Fraksi-Fraksi <i>H. atra</i>	39
Gambar 9 Zona Hambat Fraksi A <i>H. atra</i>	41
Gambar 10 Rerata Hasil Zona Hambat dan Hasil Uji BNT 5 % Fraksi A <i>H. atra</i>	42
Gambar 11 Spektrum FT-IR Fraksi A <i>H. atra</i>	43
Gambar 12 Spektrum UV-Vis Fraksi A <i>H. atra</i>	45
Gambar 13 Spektrum LC Fraksi A <i>H. atra</i>	47
Gambar 14 Spektrum MS Rt 1,9 Fraksi A <i>H. atra</i>	47
Gambar 15 Spektrum MS Rt 4,1 Fraksi A <i>H. atra</i>	47



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol *Holothuria atra*..... 59
 Lampiran 2 Prosedur Pembuatan DMSO 10 % dan Konsentrasi 60
 Lampiran 3 Hasil Kromatografi Lapis Tipis..... 63
 Lampiran 4 Analisis Keragaman (ANOVA) Penelitian Pendahuluan 65
 Lampiran 5 Analisis Keragaman (ANOVA) Penelitian Utama..... 67
 Lampiran 6 Hasil Analisa FT-IR 70
 Lampiran 7 Hasil Analisa Spektrofotometer UV-Vis 71
 Lampiran 8 Hasil Analisa LC-MS 72
 Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian..... 76

