

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TERIPANG PASIR (*Holothuria Scabra*) TERHADAP BAKTERI JERAWAT *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* DAN *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

OLEH:

VERONIKA ANGELIA PUTRI DEBANG

NIM.155080600111030



PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN

JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TERIPANG PASIR (*Holothuria Scabra*) TERHADAP BAKTERI JERAWAT *Propionibacterium acnes*,
Staphylococcus epidermis DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

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

Universitas Brawijaya

OLEH:

VERONIKA ANGELIA PUTRI DEBANG

NIM.155080600111030



PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN

JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

LEMBAR PENGESAHAN

LAPORAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TERIPANG PASIR (*Holothuria Scabra*) TERHADAP BAKTERI JERAWAT *Propionibacterium acnes*,
Staphylococcus epidermis DAN *Staphylococcus aureus*

Oleh :

Veronika Angelia Putri Debang
NIM. 155080600111030

Dosen Pembimbing 1

Feni Iranawati S.Pi., M.Si., Ph.D
NIP.19740812 200312 2 001

Tanggal. 18 JUL 2019

Menyetujui,

Dosen pembimbing 2

Ardi Ardiansyah S.Farm., M.Sc
NIP. 198809052014011001

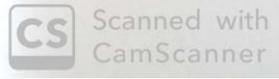
Tanggal. 18 JUL 2019

Mengetahui,

Ketua Jurusan PSPK

Dr. Eng. Abu Bakar Sambah, S.Pi., MT
NIP. 197807172005011002

Tanggal. 18 JUL 2019



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Uji aktivitas antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus aureus*.

Nama Mahasiswa : Veronika Angelia Putri Debang

NIM : 155080600111030

Program Studi : Ilmu Kelautan

PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing 1 : Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D

Pembimbing 2 : Ardi Ardiansyah, S.Farm., M.Sc

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :

Dosen Penguji 1 : M. Arif As'adi, S.Kel., M.Sc

Dosen Penguji 2 : Rarasrum Dyah K, S.Kel.,M.Sc

Tanggal Ujian : 02 Juli 2019

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu memperlancar dalam penyusunan laporan skripsi sehingga terselesaikannya laporan ini, diantaranya:

1. Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan kasihnya sehingga laporan ini telah terselesaikan.
2. Kedua orang tua saya bapak Herman Sidebang dan ibu Rosida Saragih S.Pd, Kakak saya Hendro Putra Debang, adik saya Spanjey Daniel Putra Debang, dan segenap keluarga yang banyak memberi dukungan.
3. Ibu Feni Iranawati S.Pi., M.Si., Ph.D dan Bapak Ardi Ardiansyah M.Sc., selaku dosen pembimbing yang telah membantu penulis dalam proses penelitian maupun dalam penyusunan laporan.
4. Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu dan Pengetahuan Indonesia, Jakarta Utara yang telah memberikan izin dan memberikan banyak fasilitas laboratorium serta mendanai sebagian besar dari penelitian khususnya Laboratorium Produk Alam Laut, Bapak Abdullah Rasyid S.Si, Ibu Untari, kak Anggery S.Pi, serta kak Aji Nugroho S.Pi sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian skripsi dengan lancar.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, namun telah membantu penulis selama pengerjaan skripsi. Semoga semua pihak yang telah membantu Tuhan berikan berkat yang luar biasa.

Malang, 02 Juli 2019

Penulis

RINGKASAN

VERONIKA NGELIA PUTRI DEBANG . Uji aktivitas antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus aureus* (di bawah bimbingan **Feni Iranawati S.Pi., M.Si., Ph.D** dan **Ardi Ardiansyah M.Sc**)

Jerawat adalah penyakit kulit peradangan kronik folikel polisebasea yang umumnya terjadi pada masa remaja dengan gambaran klinis berupa komedo, papul, pustul, nodus dan kista. Bentuknya seperti bisul berisi dan kadang-kadang berubah jadi keras. *Acne vulgaris* dapat disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*. Pengobatan yang lazim digunakan adalah antibiotik, namun obat-obat tersebut memiliki efek samping seperti iritasi. Oleh karena itu diperlukan alternatif bahan obat, utamanya yang berasal dari bahan-bahan alam untuk meminimalisir efek samping. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan Teripang (*Holothuria* sp.) yang memiliki kandungan bioaktif sebagai bahan antibakteri.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbedaan pelarut terhadap potensi antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*), perbedaan potensi antibakteri ekstrak *Holothuria scabra* basah dan *Holothuria scabra* kering, nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan nilai MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*), serta mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*).

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan *mikrotiter plate bioassay* dengan indikator Resazurin. Sampel yang digunakan yaitu *Holothuria scabra* basah dan *Holothuria scabra* kering, adapun pelarut yang digunakan adalah pelarut polar (metanol), pelarut semi polar (etil asetat), dan pelarut non polar (n-heksana). Sebelum mencari nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) maka terlebih dahulu melakukan skrining antibakteri, sehingga sampel yang menunjukkan nilai positif yang akan dicari nilai MIC dan MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*). Sampel, media, dan bakteri uji yang telah dimasukkan kedalam sumuran *mikrotiter plate bioassay* diinkubasi selama 24 jam dan di tetesi indikator Resazurin. Perubahan warna akan terjadi selama dua jam dengan ketentuan warna Biru sebagai positif antibakteri (sudah tidak ada pertumbuhan bakteri) sedangkan warna pink tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri (terdapat adanya pertumbuhan bakteri).

Sampel yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* adalah ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah dengan nilai MIC 10 mg/mL dan nilai MBC 20 mg/mL, sedangkan sampel yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* hanya dimiliki ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah dengan nilai MIC 10 mg/mL dan MBC 20 mg/mL. Untuk mengetahui senyawa yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri jerawat, maka dilakukan uji kandungan bioaktif pada sampel metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah yaitu : saponin, flavonoid, tanin, titerpenoid, dan alkaloid.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan SKRIPSI yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri Jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus*”.

Laporan ini membahas mengenai konsentrasi minimum yang dibutuhkan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) untuk menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus*, serta mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*).

Penyusun sadar bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka dengan kerendahan hati, penyusun mohon kritik dan saran agar dapat memperbaiki kualitas laporan skripsi ini maupun laporan selanjutnya yang akan penulis susun. Penulis berharap semoga penelitian ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi kepada semua pihak dan berguna untuk kemajuan serta perkembangan ilmu dan teknologi dalam bidang perikanan dan kelautan.

Malang, 02 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH.....	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan penelitian	3
1.4 Kegunaan.....	3
1.5 Tempat dan Waktu	3
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Bakteri Jerawat.....	5
2.1.1 <i>Propionibacterium acnes</i>	5
2.1.2 <i>Staphylococcus epidermis</i>	6
2.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	6



2.2	Sampel uji.....	7
2.3	Potensi bioaktif <i>Holothuria scabra</i>	8
2.4	Ekstraksi.....	9
2.5	Uji Aktivitas Antibakteri	9
2.5.1	MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>).....	10
2.5.2	MBC (<i>Minimum Bacterisidal Concentration</i>)	10
2.6	Indikator Resazurin.....	10
3.	METODE PENELITIAN.....	12
3.1	Waktu dan Tempat	12
3.2	Alat dan Bahan.....	12
3.3	Pengambilan Sampel.....	16
3.4	Preparasi Sampel.....	16
3.4.1	Sampel <i>Holothuria scabra</i>	16
3.4.2	Pembuatan Media, Inokulum, dan Suspensi Bakteri.....	16
3.4.3	Ekstraksi Sampel.....	17
3.4.4	Pembuatan Larutan Stok.....	18
3.5	Uji Aktivitas Antibakteri	19
3.5.1	Skrining Antibakteri.....	19
3.5.2	UJI MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>)	20
3.5.3	Uji MBC (<i>Minimum Bacterisidal Concentration</i>)	21
3.6	Uji Kandungan Bioaktif	21
3.6.1	Saponin	22



3.6.2	Flavonoid.....	22
3.6.3	Tanin	22
3.6.4	Titerpenoid	22
3.6.5	Alkaloid.....	22
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1	Deskripsi Sampel.....	23
4.2	Rendemen Ekstrak	24
4.3	Skrining Antibakteri.....	25
4.3.1	Skrining Antibakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	25
4.3.2	Skrining Antibakteri <i>Staphylococcus epidermis</i>	26
4.3.3	Skrining Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	28
4.4	MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>).....	30
4.4.1	MIC <i>Propionibacterium acnes</i>	31
4.4.2	MIC <i>Staphylococcus epidermis</i>	32
4.4.3	MIC <i>Staphylococcus aureus</i>	34
4.5	MBC (<i>Minimum Bacterisidal Concentration</i>)	35
4.5.1	MBC <i>Propionibacterium acnes</i>	35
4.5.2	MBC <i>Staphylococcus epidermis</i>	37
4.5.3	MBC <i>Staphylococcus aureus</i>	38
4.6	Kandungan Bioaktif	39
4.6.1	Saponin	40
4.6.2	Flavonoid.....	40

4.6.3	Tanin	41
4.6.4	Titerpenoid	41
4.6.5	Alkaloid.....	42
5	KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
5.1	Kesimpulan.....	45
5.2	Saran.....	45
	DAFTAR PUSTAKA.....	47
	DAFTAR LAMPIRAN.....	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Teripang pasir (<i>Holothuria scabra</i>).....	8
2. Mikrotiter plate bioassay skrining antibakteri.....	19
3. Mikrotiter plate bioassay MIC.....	20
4. Uji MBC (garis = bakteri, warna kuning = MHA)	21
5. <i>Holothuria scabra</i> basah dan <i>Holothuria scabra</i> kering	23
6. Hasil skrining antibakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	25
7. Hasil skrining antibakteri <i>Staphylococcus epidermis</i>	27
8. Hasil skrining antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	29
9. Hasil MIC <i>Propionibacterium acnes</i>	31
10. Hasil MIC <i>Staphylococcus epidermis</i>	32
11. Hasil MIC <i>Staphylococcus aureus</i>	34
12. Hasil uji MBC <i>Propionibacterium acnes</i> ekstrak metanol	36
13. Hasil Uji MBC <i>Propionibacterium acnes</i> ekstrak etil asetat	36
14. Hasil MBC <i>Staphylococcus epidermis</i> ekstrak metanol.....	37
15. Hasil MBC <i>Staphylococcus epidermis</i> ekstrak etil asetat	38
16. Hasil MBC <i>Staphylococcus aureus</i> ekstrak etil asetat.....	39
17. Hasil uji Saponin (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)	40
18. Hasil uji Flavonoid (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat).....	41
19. Hasil uji Tanin (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)	41
20. Hasil uji Titerpenoid (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)	42
21. Hasil uji Alkaloid (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat).....	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan beserta fungsinya	12
2. Bahan yang digunakan beserta fungsinya	14
3. Konsentrasi ekstrak sampel <i>Holothuria scabra</i>	18
4. Karakterisasi sampel <i>Holothuria scabra</i>	23
5. Hasil rendemen ekstrak <i>Holothuria scabra</i>	24
6. Isi sumuran skrining antibakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	25
7. Isi sumuran skrining antibakteri <i>Staphylococcus epidermis</i>	27
8. Isi sumuran skrining antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	29
9. Hasil seluruh skrining antibakteri	30
10. Isi sumuran MIC <i>Propionibacterium acnes</i>	31
11. Isi sumuran MIC <i>Staphylococcus epidermis</i>	33
12. Isi sumuran <i>Staphylococcus aureus</i>	34
13. Hasil uji kandungan bioaktif	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi kegiatan Laboratorium.....	50
2. Dokumentasi Sampel.....	52



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jerawat adalah penyakit kulit peradangan kronik folikel polisebasea yang umumnya terjadi pada masa remaja dengan gambaran klinis berupa komedo, papul, pustul, nodus dan kista pada tempat predileksinya yaitu muka, bahu, leher, dada, punggung bagian atas dan bagian lengan. Bentuknya seperti bisul berisi dan kadang-kadang berubah jadi keras. Pada kulit terutama wajah terdapat benjolan-benjolan kecil, berkepala kuning, berisi nanah, terasa gatal dan sedikit nyeri. Meskipun bukan merupakan ancaman kesehatan yang serius, jerawat dapat menurunkan rasa percaya diri dari seseorang. Jerawat terjadi karena penyumbatan pilosebaceous dan peradangan yang umumnya dipicu oleh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus* (Ardina, 2011).

Acne vulgaris dapat disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* tidak patogen pada kondisi normal, tetapi bila terjadi perubahan kondisi kulit maka bakteri tersebut berubah menjadi invasive, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat patogen pada manusia. Sekresi kelenjar keringat dan kelenjar sebaceous yang menghasilkan air, asam amino, urea, garam dan asam lemak merupakan sumber nutrisi bagi bakteri. Bakteri ini berperan pada proses kemotaktik inflamasi serta pembentukan enzim lipolitik pengubah fraksi sebum menjadi massa padat, yang menyebabkan terjadinya penyumbatan pada saluran kelenjar sebaceous (Carolia, 2016).

Pengobatan yang lazim digunakan untuk mengobati jerawat adalah dengan menggunakan antibiotik seperti tetrasiklin, eritromisin, doksisisiklin dan klindamisin. Selain itu pengobatan jerawat juga dapat menggunakan benzoil peroksida, asam azelat dan retinoid. Namun obat-obat tersebut memiliki efek samping dalam penggunaannya sebagai antijerawat antara lain iritasi dan penggunaan antibiotik sebagai pilihan pertama dalam penyembuhan jerawat harus ditinjau kembali untuk membatasi perkembangan resistensi antibiotik. Oleh karena itu diperlukan alternatif bahan obat untuk mengatasi masalah jerawat, terutama yang berasal dari

bahan-bahan alam untuk meminimalisir efek samping. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan menggunakan Teripang (*Holothuria* sp.) yang memiliki kandungan bioaktif sebagai bahan antibakteri. Teripang mengandung bahan aktif antibakteri, antifungi (antijamur), antitumor dan antikoagulan (anti penggumpal) (Roihanah *et al.*, 2013). Berdasarkan beberapa penelitian *Holothuria scabra* telah terbukti sebagai agen antibakteri yang potensial. Potensi ekstrak antibakteri *Holothuria scabra* dapat berasal dari adanya agen antibakteri yaitu saponin dan triterpenoid (Nimah, 2012).

Untuk mengetahui potensi *Holothuria scabra* sebagai antibakteri, maka dilakukan ekstraksi dan evaporasi agar mendapatkan ekstrak kasar sehingga dapat dicari nilai MIC dan MBC ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*). Optimalisasi proses ekstrak *Holothuria scabra*, dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya, kondisi simplisia, ukuran partikel simplisia, jenis pelarut, rasio dan bahan pelarut, suhu proses, peralatan ekstraksi serta metode ekstraksi (Sari *et al.*, 2014). Metode pemisahan yang meliputi cara ekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda seperti penggunaan metanol (pelarut polar), etil asetat (pelarut semi polar), dan n-heksana (pelarut non polar).

Kondisi tersebut mendorong untuk dilakukannya pengembangan penelitian antibakteri alami dari organisme laut yang ada di Indonesia, khususnya teripang pasir (*Holothuria scabra*). Potensi *Holothuria scabra* sebagai antibakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus* dengan tiga pelarut yang berbeda saat ekstraksi perlu untuk diteliti.

1.2 Rumusan Masalah

Teripang digunakan sebagai sumber obat tradisional. Menurut kepercayaan masyarakat pesisir, cairan selom Teripang digunakan ketika nelayan terluka agar lukanya cepat sembuh. Obat ini disebut "*gamat*" yang berasal dari beberapa jenis mentimun laut yang digunakan, terutama *Holothuria scabra*. Teripang mengandung bahan aktif antibakteri, antifungi (antijamur), antitumor dan antikoagulan (antipenggumpal). Teripang pasir (*Holothuria scabra*) berpotensi menjadi sumber biofarma baru melalui proses pemisahan senyawa aktif atau ekstraksi. Ekstrak dari *Holothuria scabra* menunjukkan aktivitas antibakteri. Berdasarkan uraian tersebut diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah jenis pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap potensi antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) ?

2. Apakah perbedaan potensi antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) basah dan teripang pasir (*Holothuria scabra*) kering ?
3. Berapakah MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bakterisidal Concentration*) yang dibutuhkan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus* setelah ditetesi indikator Resazurin ?
4. Apakah senyawa bioaktif yang terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*) ?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui:

1. Pengaruh perbedaan pelarut terhadap potensi antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*).
2. Perbedaan potensi antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) basah dan teripang pasir (*Holothuria scabra*) kering.
3. Nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bakterisidal Concentration*) yang dibutuhkan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus* setelah ditetesi indikator Resazurin.
4. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam teripang pasir (*Holothuria scabra*).

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk memberikan informasi mengenai potensi dari ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) sebagai antibakteri terhadap bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Memberikan informasi mengenai pemanfaatan *Holothuria scabra* dalam penelitian berikutnya.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan pada tanggal 13 Februari 2019 – 23 April 2019 meliputi tahap persiapan, analisis sampel, dan analisis data. Sampel teripang pasir (*Holothuria scabra*) didapatkan dari pantai Sari Ringgung, Lampung. Bakteri *Propionibacterium acnes*, dan *Staphylococcus epidermis* didapatkan dari

Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Institut Teknologi Bandung, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan biakan murni yang telah ada di Laboratorium P2O LIPI. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Produk Alam Laut Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu dan Pengetahuan Indonesia, Jakarta Utara.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Jerawat

Jerawat merupakan penyakit peradangan yang terjadi akibat adanya penyumbatan pada kelenjar polisebasea yang ditandai dengan adanya komedo, papul, pustul, dan nodul. Penyebaran jerawat dapat terjadi pada area yang mengandung kelenjar sebaceous seperti wajah, leher, lengan atas, dada, dan punggung. Jerawat merupakan penyakit kulit yang dikenal dengan *acne vulgaris*, yang hampir semua orang mengalami masalah jerawat. Jerawat sering dianggap sebagai kelainan kulit yang timbul secara fisiologis. Peradangan jerawat dipicu oleh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus aureus* (Sukmawati, 2019).

2.1.1 *Propionibacterium acnes*

Dalam penelitian ini bakteri yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes*. *Propionibacterium acnes* adalah organisme yang pada umumnya memberi kontribusi terhadap terjadinya jerawat (Sukmawati, 2019). Adapun klasifikasi secara ilmiah dari *Propionibacterium acnes* menurut Dwidjoseputro (1988) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Bacteria
Sub Divisi	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacteridae
Bangsa	: Actinomycetales
Suku	: Propionobacteriaceae
Marga	: Propionibacterium
Jenis	: <i>Propionibacterium acnes</i>

Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif dan anaerob yang merupakan flora normal kelenjar sebaceous. Peranan bakteri *Propionibacterium acnes* pada patogenesis jerawat adalah memecah trigliserida, salah satu komponen sebum, menjadi asam lemak bebas sehingga terjadi kolonisasi *Propionibacterium acnes* yang memicu inflamasi. Selain itu, antibodi terhadap antigen dinding sel *Propionibacterium acnes* meningkatkan inflamasi melalui aktivasi komplemen. *Acne* bukan merupakan penyakit infeksi. Ada tiga spesies mikroorganisme yang dapat diasosiasikan dengan perkembangan jerawat, yaitu *Propionibacterium*, *Staphylococcus* koagulase negatif, dan jamur

Malassezia. Tetapi pada penderita jerawat bakteri *Staphylococcus* dan jamur Malassezia tidak banyak berperan penting, sehingga penyebab jerawat lebih di fokuskan pada bakteri *Propionibacterium* (Jappe, 2003).

2.1.2 *Staphylococcus epidermis*

Staphylococcus epidermis adalah bakteri jerawat yang digunakan pada penelitian ini. Adapun klasifikasi *Staphylococcus epidermis* menurut Garrity (2004) adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Staphylococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: <i>Staphylococcus epidermis</i>

Staphylococcus epidermidis adalah bakteri gram positif. Sel-sel berbentuk bulat, berdiameter 0,5–1,5 μm , terdapat dalam tunggal dan berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombolan yang tak teratur. Anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik. Suhu optimum 35–40 °C (Mulyani, 2017).

2.1.3 *Staphylococcus aureus*

Jerawat sering dianggap sebagai kelainan kulit yang timbul secara fisiologis. Peradangan jerawat dipicu oleh beberapa bakteri, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus aureus* (Sukmawati, 2019). Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut.

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Micrococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri gram positif berbentuk bulat yang merupakan bakteri patogen bagi manusia. *Staphylococcus aureus* juga dapat menginfeksi jaringan atau alat tubuh lain yang menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas seperti nekrosis, peradangan dan pembentukan abses (Lauma, 2015). Bakteri yang sering ditemukan pada jerawat

adalah bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. *Staphylococcus aureus* biasanya terdapat pada saluran pernafasan atas, saluran kencing, mulut dan hidung, jaringan kulit bagian dalam dari bisul bernanah, infeksi luka, radang paru-paru dan selaput lender lainnya (Apriliana, 2016).

2.2 Sampel uji

Sampel uji yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak Teripang pasir (*Holothuria scabra*). Klasifikasi *Holothuria scabra* menurut Martoyo *et al.*, (2006) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Echinodermata
Kelas	: Holothuridea
Ordo	: Aspidochirotida
Famili	: Aspidochirota
Genus	: <i>Holothuria</i>
Spesies	: <i>Holothuria scabra</i>

Masing-masing daerah mempunyai nama lokal atau nama daerah yang berbeda-beda untuk masing-masing jenis teripang. Misalnya Teripang *Holothuria scabra* di daerah Kepulauan Seribu dikenal dengan teripang pasir, sedangkan di daerah Manado dikenal dengan teripang susuan (Martoyo *et al.*, 2006). Tubuh *Holothuria scabra* berdaging lunak dan berbentuk silindris, bagian perut teripang berwarna kuning keputihan dan punggung berwarna abu-abu dengan garis-garis melintang berwarna hitam. Warna tubuh dari teripang bermacam-macam diantaranya yaitu, hitam, abu-abu, kecoklat-coklatan, kemerah-merahan, kekuning-kuningan dan putih (Kordi, 2010). Ukuran tubuh yang berbeda-beda dengan panjang berkisar 25-35 cm dengan berat antara 250-350 gram (Widodo, 2013).



Gambar 1. Teripang pasir (*Holothuria scabra*)

Mulut *Holothuria scabra* ada pada salah satu ujung dan dubur. Mulut teripang dikelilingi oleh tentakel atau lengan peraba yang bercabang-cabang. Tubuhnya tebal atau tipis, licin dan kulitnya bercorak atau berbintil-bintil. Warna tubuh teripang bermacam-macam diantaranya yaitu, hitam, abu-abu, kecoklat-coklatan, kemerah-merahan, kekuning-kuningan dan putih (Kordi, 2010). Untuk membedakan jenis kelamin jantan atau betina secara morfologi sangat sulit, karena harus dilakukan pembedahan pada bagian gonadnya untuk diambil organ kelaminnya.

2.3 Potensi bioaktif *Holothuria scabra*

Salah satu kekayaan laut Indonesia yaitu banyaknya jenis spesies dari hewan teripang, dari 650 jenis teripang di dunia, 10% nya terdapat di Indonesia. Ada 7 jenis yang memiliki nilai ekonomis tinggi salah satunya yaitu teripang pasir (*Holothuria scabra*) (Yusuf, 2008). Tidak hanya memiliki nilai ekonomis tinggi, teripang pasir (*Holothuria scabra*) berpotensi menjadi sumber biofarma baru melalui proses pemisahan senyawa aktif atau ekstraksi (Pranoto *et al.*, 2012). Ekstrak dari *Holothuria scabra* di Asia menunjukkan aktivitas antimikroba, antibakteri, dan antijamur. Berdasarkan beberapa penelitian teripang pasir (*Holothuria scabra*) terbukti sebagai agen antibakteri yang potensial.

Potensi lainnya yang dimiliki oleh teripang pasir (*Holothuria scabra*) yaitu merupakan salah satu bahan alam yang kaya akan senyawa metabolit sekunder diantaranya steroid, saponin, triterpenoid, glycosaminoglycan, lektin, dan fenol (Bordbar *et al.*, 2011). Berdasarkan beberapa penelitian *Holothuria scabra* telah terbukti sebagai agen antibakteri yang potensial. Kandungan anti bakteri dan anti fungi teripang meningkatkan kemampuannya untuk tujuan perawatan kulit. Teripang juga diketahui mempunyai efek antinosiseptif (penahan

sakit) dan anti-inflamasi (melawan radang dan mengurangi pembengkakan) (Wibowo *et al.*, (1997). Potensi ekstrak antibakteri dari *Holothuria scabra* dapat berasal dari adanya agen antibakteri yaitu saponin (Abraham *et al.*, 2002), dan triterpenoid (Farouk *et al.*, 2007).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstrak dari bahan padat dapat dilakukan jika bahan yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengestraksi, tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Soeparman *et al.*, 2009).

Ekstraksi tergantung dari beberapa faktor antara lain yaitu : ukuran partikel, jenis pelarut, suhu dan pengadukan. Pelarut yang digunakan tergantung dari sifat komponen yang akan diisolasi. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan polaritas pelarut agar bahan dapat larut. Ada tiga jenis pelarut, yaitu pelarut polar (metanol), semi-polar (etil asetat) dan non polar (n-heksana). Prinsip pemilihan pelarut adalah *like dissolve like*, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar (Panji, 2005).

Metode maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam bahan dalam pelarut selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Proses ini digunakan untuk mengekstraksi teripang pasir (*Holothuria scabra*) dan mendapatkan filtrat yang akan di evaporasi dan menghasilkan rendemen. Keuntungan dari metode maserasi adalah peralatannya sederhana, dan mudah dalam pengerjaannya (Soeparman *et al.*, 2009).

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri akan dilakukan dua tahap yaitu uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*).

2.5.1 MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) merupakan konsentrasi terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan organisme. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan oleh tidak adanya pertumbuhan bakteri pada setiap konsentrasi ekstrak pasca diinokulasikan pada medium yang diujikan. Konsentrasi ekstrak terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Andrews, 2001).

Pemberian antibakteri dalam jumlah yang berlebihan dan secara terus menerus akan menyebabkan sel bakteri menjadi resisten. Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari suatu senyawa antibakteri sangat penting karena selain bertujuan untuk meningkatkan efektifitas dari senyawa antibakteri tersebut juga bertujuan untuk mencegah timbulnya masalah resistensi bakteri karena penggunaan dosis yang berlebihan sehingga sel bakteri lama kelamaan akan menjadi kebal (Salni, 2011).

2.5.2 MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*)

Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Holothuria scabra* ini dilakukan dengan metode dilusi cair. Pada prinsipnya metode dilusi cair dilakukan dengan mengencerkan ekstrak hingga didapat suatu variasi konsentrasi yang kemudian masing-masing konsentrasi tersebut ditambahkan dengan suspensi bakteri dalam media cair. Keuntungan metode ini adalah memungkinkan berinteraksinya bahan uji dengan suspensi bakteri yang tersebar merata, maka penghambatan terhadap bakteri menjadi lebih efektif (Pratiwi, 2008).

Metode ini dapat digunakan untuk menentukan nilai MIC dan MBC. Nilai MBC ditentukan dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan koloni hasil goresan larutan uji pada media agar oleh seluruh sumuran MIC. Agar yang telah digoreskan larutan uji MIC dapat diamati setelah inkubasi selama 24 jam. Kadar terendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri dinyatakan sebagai MBC (Kumalasari, 2011).

2.6 Indikator Resazurin

Resazurin memiliki warna biru yang tidak berflourescent dan dapat tereduksi menjadi warna pink yang berflourescent dalam bentuk resorufin. Perubahan warna dari biru (resazurin) menjadi warna pink (resorufin) merupakan indikator terjadinya reduksi oleh sel. Perubahan warna dilakukan oleh enzim-enzim dalam sel pada bagian mitokondria dan sitoplasma (Sarker *et al.*, 2007).

Resazurin memiliki sensitivitas dan selektifitas dibanding metode lain (Bwanga *et al.*, 2010). Metode resazurin memiliki beberapa kelebihan yaitu non radioaktif, mudah digunakan, murah, tidak diperlukan keahlian khusus dalam penggunaan, pengujian dapat dilakukan cepat pada sampel yang banyak, tidak beracun, tidak mengganggu uji kimia, dan berguna untuk menentukan kecepatan tumbuh suatu sel (Petrusa *et al.*, 2013).

Berdasarkan reaksi redok maka warna biru menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri sedangkan warna pink menandakan adanya pertumbuhan bakteri pada skrining antibakteri, dan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ditentukan dengan cara melihat sumur berwarna biru pada konsentrasi terkecil (Purnama, 2018).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada tanggal 13 Februari 2019 – 23 April 2019 meliputi tahap persiapan, analisis sampel, dan analisis data. Sampel teripang pasir (*Holothuria scabra*) didapatkan dari pantai Sari Ringgung, Lampung. Bakteri *Propionibacterium acnes*, dan *Staphylococcus epidermis* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Institut Teknologi Bandung, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan biakan murni yang telah ada di Laboratorium P2O LIPI. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Produk Alam Laut Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu dan Pengetahuan Indonesia, Jakarta Utara.

3.2 Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini, dibutuhkan beberapa alat dan bahan untuk uji aktivitas antibakteri pada sampel di Laboratorium Produk Alam Laut P2O LIPI. Alat yang digunakan dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan beserta fungsinya

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1.	Timbangan kue	Poyear	Menimbang sampel <i>Holothuria scabra</i> basah dan kering
2.	Timbangan digital	Kenko KK-BL	Menimbang media MHA dan Media MHB
3.	Timbangan analitik	Sartorius CPA224S	Menimbang rendemen, dan mikrotube
4.	Pisau	-	Memotong sampel <i>Holothuria scabra</i>
5.	<i>Beaker glass</i>	AGC Iwaki Volume : 1000 mL, 500 mL, 100 mL, 10 mL	Wadah maserasi sampel <i>Holothuria scabra</i> , mengukur volume pelarut.
6.	Botol	Scott Durant Volume : 1000 mL dan 2000 mL	Wadah filtrat hasil maserasi. wadah pembuatan media MHA dan MHB

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
7.	Corong	-	Alat bantu penyaringan hasil maserasi
8.	Kertas saring	-	Penyaring hasil maserasi
9.	<i>Rotary Evaporator</i>	IKA HB-10	Menguapkan filtrat untuk memperoleh maserat pekat
10.	Botol Vial	Volume : 0 – 10 mL	Wadah rendemen
11.	Spektrofotometer UV-Visible	Amersham ultrospec3300 pro	Mengukur <i>optical density</i> bakteri uji
12.	<i>Laminar Air Flow</i>	Sanyo bio clean bech	Tempat pengerjaan uji aktivitas antibakteri
13.	<i>Chuvette</i>	-	Wadah sampel bakteri uji saat diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis.
14.	Tube	Volume : 15 mL	Wadah larutan ekstrak dan wadah indikator Resazurin
15.	Erlenmeyer	AGC Iwaki Volume 250 mL	Wadah pelarut
16.	Spatula	-	Mengaduk maserat pada saat maserasi
17.	<i>Wise stir</i>	Wisd MSM 20-D	Pemanas media MHA
18.	<i>Magnetic stirer</i>	-	Menghomogenkan media saat dipanaskan
19.	<i>Autoclave</i>	Tommy SX-700	Wadah sterisasi
20.	Tabung reaksi	-	Wadah uji fitokima
21.	Cawan petri	-	Wadah media MHA steril
22.	Inkubator		Inkubasi bakteri uji
23.	96- well plate	Iwaki	Wadah larutan skrining antibakteri, wadah larutan uji MICs
24.	<i>Yellow and Blue tips</i>	-	Tips untuk memindahkan larutan pada skala µl.

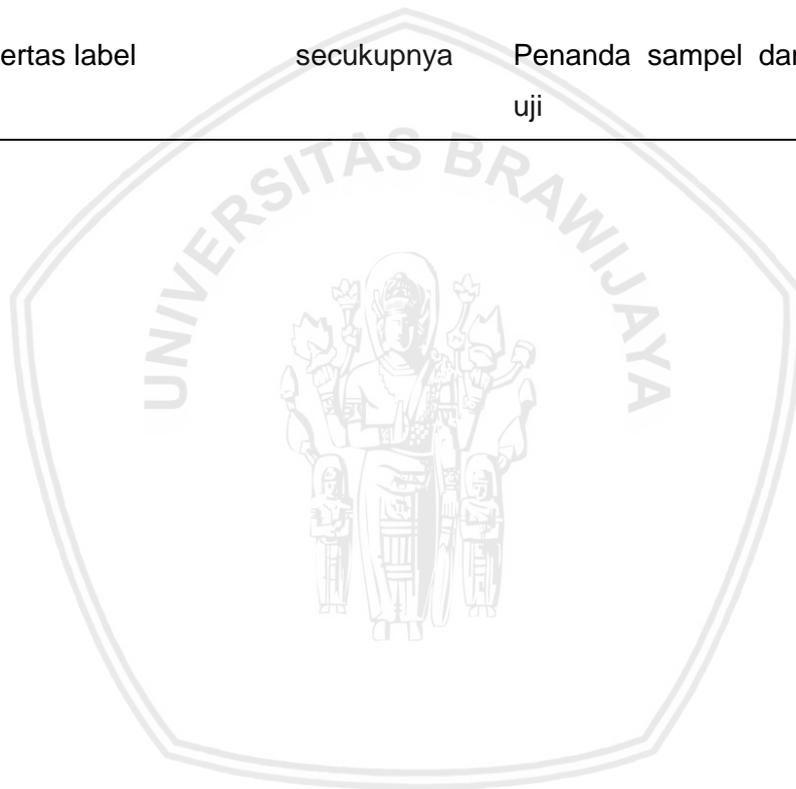
No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
25	Mikro pipet	Soccorex Volume : 0-20 uL, 10-100 uL	Memindahkan larutan pada skala μL .

Bahan yang digunakan pada penelitian Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Holothuria scabra* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan yang digunakan beserta fungsinya

No	Bahan	Jumlah	Fungsi
1.	<i>Holothuria scabra</i> basah	1500 gram	Sampel ekstrak uji antibakteri
2.	<i>Holothuria scabra</i> kering	300 gam	Sampel ekstrak uji antibakteri
3.	Metanol	4500 mL	Pelarut polar
4.	Etil asetat	3500 mL	Pelarut semi polar
5.	N-heksana	2500 mL	Pelarut non polar
6.	Alumunium Foil	secukupnya	Penutup wadah
7.	Aquadest	2500 mL	Melarutkan media MHA, MHB, Indikator Resazurin, Antibiotik, dan sebagai pengenceran MIC
8.	Media MHA	38 gram	Media uji MBC
9.	Media MHB	21 gram	Media pertumbuhan bakteri uji
10.	<i>Propionibacterium acnes</i>	Satu cawan	Bakteri uji
11.	<i>Staphylococcus epidermis</i>	Satu cawan	Bakteri uji
12.	<i>Staphylococcus aureus</i>	Satu cawan	Bakteri uji
13.	DMSO	secukupnya	Pelarut rendemen
14.	Anibiotik Eritromisin	secukupnya	Kontrol positif uji antibakteri
15.	HCL 1 N	1 mL	Uji saponin
16.	HCL pekat	5 tetes	Uji flavonoid
17.	Pereaksi besi (III) klorida 1 %	2 tetes	Uji tanin

No	Bahan	Jumlah	Fungsi
18.	Pereasi Liebermann- Buchard	3 tetes	Uji titerpenoid
19.	HCL 2 %	1 mL	Uji alkaloid
20.	Reagen meyer	2 mL	Uji akaloid
21.	Cawan petri	secukupnya	Wadah media MHA
22.	Plastik wrap	secukupnya	Perekat cawan pettri dan 96- well plae
23.	Air	secukupya	Pembersih alat dan bahan
24.	Kertas label	secukupnya	Penanda sampel dan larutan uji



3.3 Pengambilan Sampel

Sampel teripang pasir (*Holothuria scabra*) berasal dari pantai Sari Ringgung Lampung yang telah ada di Laboratorium Produk Alam Laut P2O LIPI. Teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang akan digunakan dibagi menjadi dua kondisi yaitu *Holothuria scabra* basah dan *Holothuria scabra* kering. Sampel Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* berasal dari biakan murni di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Institut Teknologi Bandung, sedangkan sampel bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan sampel bakteri yang sudah ada di Laboratorium Produk Alam Laut P2O LIPI, Jakarta Utara.

3.4 Preparasi Sampel

Preparasi sampel yang dilakukan dibagi menjadi dua bagian, yaitu tahap preparasi sampel teripang pasir (*Holothuria scabra*) dan tahap preparasi bakteri uji dengan melakukan pembuatan media, pembuatan inokulum dan pembuatan suspensi bakteri. Preparasi sampel yang dilakukan selama penelitian secara lebih detail adalah sebagai berikut.

3.4.1 Sampel *Holothuria scabra*

Sampel *Holothuria scabra* basah sebanyak 1500 gr dimasukkan kedalam tiga wadah yang berisikan 500 gr setiap wadahnya, untuk sampel *Holothuria scabra* kering sebanyak 300 gr dimasukkan kedalam tiga wadah yang berisikan 100 gr setiap wadahnya. Seluruh sampel bagian isi perutnya dibuang dan dagingnya dipotong kecil-kecil hingga halus agar memudahkan proses ekstraksi.

3.4.2 Pembuatan Media, Inokulum, dan Suspensi Bakteri

Media yang digunakan saat penelitian adalah *Muehler Hilton Broth* (MHB), dan *Muehler Hilton Agar* (MHA). Media MHB sebanyak 21 gr dan media MHA sebanyak 38 gr masing-masing dimasukkan kedalam botol Durant dan dilarutkan dalam 1 liter aquadest lalu tambahkan *magnetic stirrer*. Botol durant yang telah terisi media, aquadest, dan *magnetic stirrer* dipanaskan pada *wise stir* dengan suhu 200°C dan perputaran *magnetic stirrer* sebesar 220 rpm agar media yang dipanaskan cepat mendidih dan homogen. Setelah media dipanaskan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media MHB dituang pada tabung yang telah steril, sedangkan media MHA dituang pada cawan petri dan direkatkan dengan plastik wrap.

Pembuatan inokulum bakteri dilakukan dengan mengambil tiga ose koloni biakan murni bakteri uji lalu masukkan pada tabung yang telah berisi media MHB kemudian tabung divortex agar homogen, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri uji yang telah diinkubasi diambil sebanyak 2 mL dan dimasukkan kedalam *chuvette* untuk uji OD (*Optical Density*) atau kepadatan bakteri yang terlihat sebagai kekeruhan medium. Uji OD dilakukan menggunakan spektrofotometri visibel ultrospec 3300 pro. Setelah hasil OD didapatkan, suspensi bakteri dapat dipakai untuk melakukan uji aktivitas antibakteri (Sukmawati, 2019).

3.4.3 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode ini dipilih karena dapat menghindari rusaknya senyawa dari sampel yang akan di ekstrak. Sampel *Holothuria scabra* yang telah dipotong kecil-kecil hingga halus, direndam dengan tiga pelarut yang berbeda dengan perbandingan 1:2 (W/V). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol (pelarut polar), etil asetat (pelarut semi polar), dan n-heksana (pelarut non polar) (Nimah *et al.*, 2012).

Maserat yang dihasilkan dari maserasi selama 3 x 24 jam disaring untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Hasil residu yang telah didapat di maserasi kembali selama 3 x 24 jam lalu disaring. Maserasi dilakukan berulang sampai hasil filtrat bening dan tidak keruh, seluruh filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh maserat pekat (ekstrak kasar) (Sari, 2015).

Prinsip *rotary evaporator* yaitu menguapkan pelarut dengan merotasikan atau memutar labu sebagai wadah filtrat untuk memperoleh endapan ekstrak. Suhu yang digunakan dalam penguapan ini adalah 40°C agar senyawa bioaktif tidak rusak. Sesuai dengan pernyataan Pranoto (2012), bahwa penggunaan rotavapor vakum untuk memekatkan larutan hasil ekstraksi dengan volume yang kecil, sebaiknya menggunakan suhu 30-40°C untuk mendapatkan ekstrak kasar sehingga rendemen hasil ekstraksi dapat dihitung. Rendemen merupakan persentase bagian bahan baku yang dapat digunakan atau dimanfaatkan dengan total bahan baku. Rendemen merupakan persentase sampel sebelum dan setelah perlakuan.

Adapun perhitungan rendemen ekstrak teripang pasir sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental Total}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$

Semakin lama waktu ekstrak dan semakin halus ekstraknya, maka semakin banyak pula rendemen yang didapatkan. Semakin besar perbandingan bahan

baku pelarut yang digunakan, maka semakin banyak ekstrak kasar yang didapat. Untuk mendapatkan ekstrak yang lebih banyak harus dilakukan ekstraksi yang lebih lama (Zuniarto, 2017).

3.4.4 Pembuatan Larutan Stok

Sampel ekstrak *Holothuria scabra* yang akan diuji terdapat enam sampel yaitu : ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah, ekstrak metanol *Holothuria scabra* kering, ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah, ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* kering, ekstrak n-heksana *Holothuria scabra* basah, dan ekstrak n-heksana *Holothuria scabra* kering dengan konsentrasi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi ekstrak sampel *Holothuria scabra*

No	Ekstrak Sampel	Kosentrasi	Convert ppm
1.	Metanol <i>Holothuria scabra</i> basah	40 mg/mL	40000
2.	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> basah	20 mg/mL	20000
3.	n-heksana <i>Holothuria scabra</i> basah	10 mg/mL	10000
4.	Metanol <i>Holothuria scabra</i> kering	40 mg/mL	40000
5.	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> kering	20 mg/mL	20000
6.	n-heksana <i>Holothuria scabra</i> kering	10 mg/mL	10000

Perbedaan konsentrasi ekstrak digunakan karena hasil rendemen yang berbeda, sehingga dijadikan tiga konsentrasi menurut hasil rendemen terbesar sampai terkecil. Antibiotik sebagai kontrol positif dilarutkan dengan aquadest steril dengan konsentrasi 50 mg/mL. Ekstrak *Holothuria scabra* diencerkan dengan *dimethylsulfoxide* (DMSO) dan akuades. Untuk mendapatkan konsentrasi DMSO 10% maka dibutuhkan DMSO sebesar 10 ml dan ditambah akuades sebesar 90 ml. DMSO merupakan suatu bahan yang digunakan sebagai pelarut bahan organik maupun anorganik dan biasa digunakan pada industri obat. Pelarut DMSO 10% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal (Reynolds, 1996). Selain itu, pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar

adalah *dimethylsulfoxide* (DMSO). DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu (Assidqi, 2012). DMSO 10% juga digunakan sebagai kontrol negatif, dan untuk indikator Resazurin dilarutkan dengan aquadest steril dengan konsentrasi 1 mg/mL.

3.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri akan dbagai menjadi tiga tahap langkah kerja yaitu : skrining antibakteri bertujuan untuk mengetahui dari seluruh ekstrak sampel yang menandakan positif antibakteri. Uji MIC bertujuan untuk mengetahui nilai minimum ekstrak sampel yang menandakan positif antibakteri mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji, dan yang terakhir uji MBC untuk mengetahui nilai minimum ekstrak sampel mampu membunuh bakteri uji. Tahapan seluruh langkah kerja uji aktivitas antibakteri sebagai berikut.

3.5.1 Skrining Antibakteri

Sampel ekstrak *Holothuria scabra* yang akan dicari nilai MIC nya terlebih dahulu dilakukan skrining antibakteri, selain untuk mengetahui ekstrak sampel yang menandakan positif antibakteri, hal ini bertujuan mempermudah pengerjaan tahap MIC, dimana tidak seluruh ekstrak harus dicari nilai MIC nya cukup yang menandakan positif antibakteri. Hal ini juga dapat mengurangi penggunaan alat dan bahan serta sebagai efisiensi waktu. Untuk langkah kerja pengujian skrining antibakteri dapat dilihat pada Gambar 2.

Sumuran	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Er	Er	Er	Kb	Kb	Kb	Km	Km	Km	Dm	Dm	Dm
B	Mb	Mb	Mb	Eb	Eb	Eb	Nb	Nb	Nb			
C	Mk	Mk	Mk	Ek	Ek	Ek	Nk	Nk	Nk			

Keterangan :

- A (sumuran kontrol) :
Er = antibiotik eritromisin (kontrol positif), Kb = Kontrol bakteri, Km = Kontrol media, Dm = DMSO 10% (Kontrol negatif).
- BC (sumuran uji sampel *Holothuria scabra*)
Mb = Metanol basah, Eb = Etil asetat basah, Nb =N-heksana basah, Mk= Metanol kering, Ek= Etil asetatkering, Nk = N-heksana kering.

Gambar 2. *Mikrotiter plate bioassay* skrining antibakteri

Setelah seluruh sumuran berisi 90 µL (30 µL media MHB + 30 µL sampel uji / sampel kontrol + 30 µL bakteri uji setiap sumurannya, *96-well plate* ditutup rapat

dan direkatkan dengan plastik *wrap* lalu inkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Setelah proses inkubasi selesai tambahkan indikator Resazurin sebanyak 20 µL setiap sumurannya, tunggu selama 1-2 jam (perubahan warna terlihat sempurna). Warna biru menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri, sedangkan warna pink menandakan adanya pertumbuhan bakteri (Purnama, 2018).

3.5.2 Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Uji MIC dilakukan ketika hasil skrining antibakteri telah diketahui, sampel yang positif sebagai antibakteri akan dilakukan pengujian lebih lanjut yaitu untuk mengetahui nilai kadar hambat minimum pertumbuhan bakteri. Kemampuan antibakteri dalam melawan bakteri dapat dilakukan dengan metode dilusi. Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi cair dan teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antibakteri secara kuantitatif, dalam penelitian ini melakukan metode dilusi cair.

Dilusi cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya pengerjaannya sama hanya berbeda dalam volume. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 mL, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0.05 mL sampai 0.1 mL, untuk penelitian ini menggunakan Dilusi cair mikrodilusi. Antibakteri yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran biasanya dalam satuan mg/mL. Secara umum untuk penentuan MIC, pengenceran antibakteri dilakukan penurunan konsentrasi setengahnya (Soleha, 2015). Pada skrining antibakteri didapatkan dua sampel positif maka dilakukan pengujian MIC, langkah kerja MIC dapat dilihat pada Gambar 3.

Sumuran	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Er	Er	Er	Kb	Kb	Kb	Km	Km	Km	Dm	Dm	Dm
B	SP1	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11
C	SP2	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11

Keterangan :

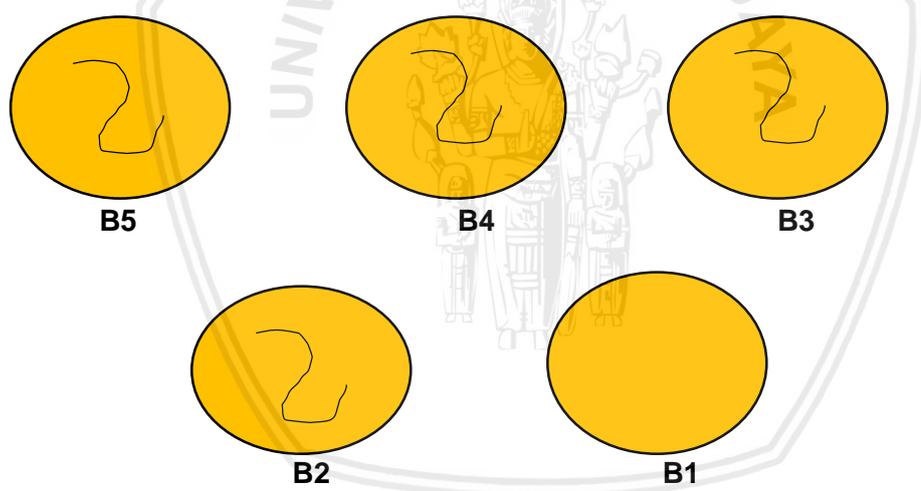
- A (sumuran kontrol) :
Er = antibiotik eritromisin (kontrol positif), Kb = Kontrol bakteri, Km = Kontrol media, Dm = DMSO 10% (Kontrol negatif).
- BC (sumuran uji MIC *Holothuria scabra*)
SP1 = Sampel positif 1, SP2 = Sampel Positif 2
P1 – P11 = hasil pengenceran setengahnya dari sumuran sebelumnya.

Gambar 3. Mikrotiter plate bioassay MIC

Setelah seluruh sumuran telah terisi, *96-well plate* ditutup rapat dan direkatkan dengan plastik *wrap* lalu inkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Setelah proses inkubasi selesai tambahkan indikator Resazurin sebanyak 20 µL setiap sumurannya, tunggu selama 1-2 jam (perubahan warna terlihat sempurna). Nilai MIC pada sumuran B dan C dapat dilihat pada sumuran yang berwarna biru, nilai MIC ditentukan pada nomor sumuran terbesar semisal sumuran B1-B5 berwarna biru, maka nilai MIC berada pada sumuran B5 karena merupakan nilai terendah dari hasil pengenceran (Tri, 2015).

3.5.3 Uji MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*)

MBC adalah konsentrasi terendah antibakteri yang dapat membunuh bakteri biakan yang di uji. Penentuan konsentrasi MBC dilakukan dengan menanam bakteri pada dilusi cair yang digunakan untuk MIC kedalam agar sebanyak 1 mL, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. MBC adalah ketika tidak terjadi lagi pertumbuhan bakteri pada agar. Contoh ilustrasi MBC dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Uji MBC (garis = bakteri, warna kuning = MHA)

Penentuan MBC dilakukan penanaman dari semua dilusi cair pada penentuan MIC. Seperti pada Gambar 4 dimana cawan petri B1 sudah tidak ditumbuhi bakteri, sehingga B1 merupakan nilai MBC pada ekstrak yang telah ditentukan pada saat uji MIC (Tri, 2015).

3.6 Uji Kandungan Bioaktif

Uji Fitokimia dilakukan terhadap ekstrak *Holothuria scabra* untuk identifikasi golongan saponin, flavonoid, tanin, dan terpenoid. Metode yang digunakan adalah sebagai berikut.

3.6.1 Saponin

Larutan ekstrak teripang pasir dimasukkan dalam tabung reaksi 2 mL ditambah air (1:1) sambil dikocok selama satu menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCL 1 N sebanyak 1 mL, busa yang terbentuk dapat bertahan selama sepuluh menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Wafa, 2014).

3.6.2 Flavonoid

Larutan ekstrak teripang dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 2 mL ditambah 2 mL etanol, kemudian ditambahkan 5 tetes HCL pekat. Adanya flavonoid diindikasikan dari terbentuknya warna merah dalam waktu tiga menit (Tiwari *et al.*, 2011).

3.6.3 Tanin

Larutan ekstrak 4 mL ditambahkan 2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Senyawa polifenol akan menghasilkan warna hijau atau biru (Sari, 2015).

3.6.4 Titerpenoid

Sebanyak 1 mL larutan ekstrak ditambah dengan pereaksi Liebermann-Burchard sebanyak 3 tetes. Adanya senyawa triterpenoid timbulnya warna merah pada larutan ekstrak (Sari, 2015).

3.6.5 Alkaloid

Larutan ekstrak teripang pasir sebanyak 2 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml HCL 2% lalu ditambahkan 2 ml reagen Meyer. Jika pada tabung reaksi terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid (Inayah, 2012).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deskripsi Sampel

Hasil yang didapatkan dari karakterisasi sampel *Holothuria scabra* basah dan kering disajikan pada Tabel 4 dan Gambar 5.

Tabel 4. Karakterisasi sampel *Holothuria scabra*

No	Kenampakan	Hasil Pengamatan	
		<i>Holothuria scabra</i> Basah	<i>Holothuria scabra</i> Kering
1.	Bentuk tubuh	Bulat panjang menyerupai ketimun	Bulat panajng dengan permukaan kasar
2.	Warna	Coklat dengan punggung berwarna abu-abu, atau kehitaman dan berbintik-bintik	Coklat pada permukaan tubuh
3.	Berat	1500 gram	300 gram

Sampel yang digunakan dapat dipastikan teripang pasir (*Holothuria scabra*), karakterisasi sampel sama dengan deskripsi *Holothuria scabra* yang digunakan pada penelitian Nimah *et.al.*, (2012). *Holothuria scabra* yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil tangkapan nelayan dari perairan pantai Sari Ringgung, Lampung.



Gambar 5. *Holothuria scabra* basah dan *Holothuria scabra* kering

Pengangkutan *Holothuria scabra* basah menggunakan *box sterofom* yang berisi es dan disimpan pada *freezer* di Laboratorium Produk Alam Laut P2O LIPI, untuk mempertahankan kesegarannya. Proses pengeringan *Holothuria scabra* kering yang didapatkan dari nelayan sudah melalui beberapa proses. Bahan baku *Holothuria scabra* yang ada dilakukan penyiangan, lalu pencucian, setelah bahan baku bersih maka dilakukan perebusan, pengasapan, dan proses yang terakhir adalah pengeringan.

4.2 Rendemen Ekstrak

Sesuai rumus perhitungan rendemen ekstrak, maka didapatkan hasil rendemen yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak *Holothuria scabra*

Pelarut	Sampel <i>Holothuria scabra</i>	Hasil Rendemen (%)	Bentuk	Warna	Bau
Metanol	Basah	1.138	Serbuk padat	Kuning	Amis
	Kering	6.464	Pasta kental	Coklat	Amis
Etil asetat	Basah	0.029	Pasta	Kuning	Amis
	Kering	0.380	Pasta berkerak	Coklat hitam	Amis
N-heksana	Basah	0.002	-	-	Amis
	Kering	0.254	Pasta	Kuning coklat	Amis

Holothuria scabra yang diekstrak dengan berbagai pelarut yang berbeda akan menghasilkan senyawa sesuai dengan tingkat kepolarannya. Pada pelarut metanol akan mengambil senyawa yang bersifat polar, pelarut etil asetat akan mengambil senyawa yang bersifat semi polar sedangkan pelarut n-heksana akan mengambil senyawa yang bersifat non polar dari sampel. Penggunaan ketiga pelarut di atas dipilih untuk mendapatkan target senyawa sebagai antibakteri (Pranoto, 2012).

Hasil rendemen didapatkan berat paling banyak terdapat pada ekstrak metanol, dan terkecil didapatkan pada ekstrak n-heksana. Hal ini dikarenakan pelarut akan menghasilkan senyawa sesuai dengan tingkat kepolarannya. *Holothuria scabra* basah memiliki kandungan air tinggi, sehingga pelarut metanol bersifat polar dapat berikatan dengan air (polar) dan menghasilkan rendemen yang

lebih tinggi, sedangkan n-heksana (non polar) sedikit atau bahkan tidak dapat berikatan dengan air, sehingga rendemen yang dihasilkan n-heksana pada *Holothuria scabra* basah sangat sedikit karena kandungan air yang masih tinggi. Hasil rendemen juga dipengaruhi oleh lamanya waktu pada saat ekstraksi, metanol membutuhkan waktu selama 15 hari hingga filtrat yang dihasilkan bening, etil asetat membutuhkan waktu 12 hari, sedangkan n-heksana hanya membutuhkan waktu selama 9 hari hingga menghasilkan filtrat yang bening (Nimah, 2012).

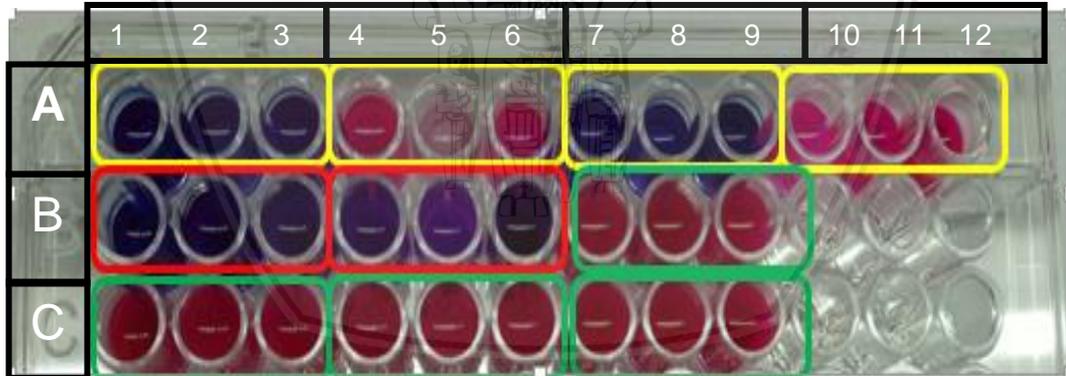
4.3 Skrining Antibakteri

Bakteri uji yang digunakan pada saat skrining antibakteri memiliki OD (*Optical Density*) sebesar $0.5 = 10^8$ CFU/mL = 0.5 McFarland standard. Hasil skrining antibakteri ekstrak *Holothuria scabra* yang di uji terhadap ketiga bakteri jerawat adalah sebagai berikut.

4.3.1 Skrining Antibakteri *Propionibacterium acnes*

Hasil skrining antibakteri *Propionibacterium acnes* setelah di tetesin indikator Resazurin dapat dilihat pada Gambar 6.

Mikrotiter Plate Bioassay



Gambar 6. Hasil skrining antibakteri *Propionibacterium acnes*

Keterangan : Kontrol (Eritromisin, Bakteri, Media, DMSO),
 Sumuran Positif Antibakteri, Sumuran Negatif Antibakteri.

Keterangan isi seluruh sumuran skrining antibakteri *Propionibacterium acnes* pada 96-well plate dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Isi sumuran skrining antibakteri *Propionibacterium acnes*

Sumuran	Sampel Uji			
	123	456	789	101112

A	Kontrol Positif Eritromisin	Kontrol Bakteri	Kontrol Media	Kontrol Negatif DMSO 10%
B	Metanol <i>Holothuria</i> <i>scabra</i> basah	Etil asetat <i>Holothuria</i> <i>scabra</i> basah	N-heksana <i>Holothuria</i> <i>scabra</i> basah	-
C	Metanol <i>Holothuria</i> <i>scabra</i> kering	Etil asetat <i>Holothuria</i> <i>scabra</i> kering	N-heksan <i>Holothuria</i> <i>scabra</i> kering	-

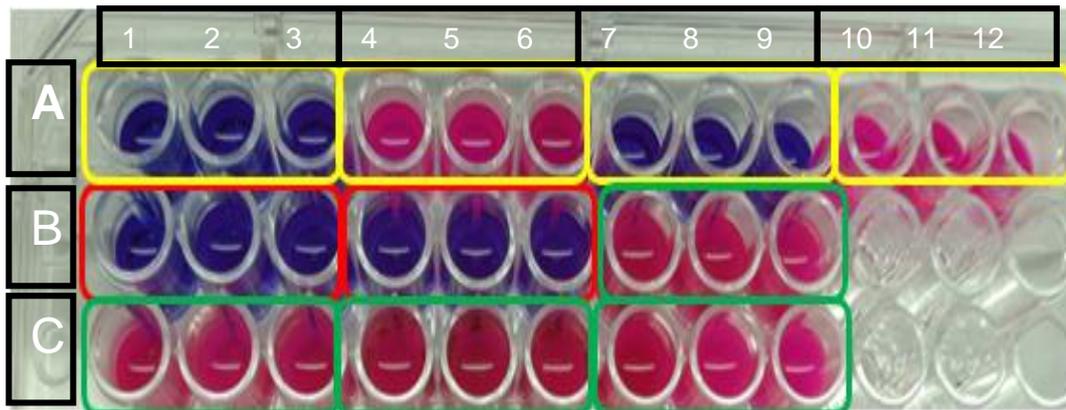
Hasil menunjukkan bahwa sampel yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri *Propionibacterum acnes* yaitu ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah (sumuran B 123) dan etil asetat *Holothuria scabra* basah (sumuran B 456). Indikator Resazurin pada sumuran tersebut menghasilkan warna biru yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Sumuran kontrol (A 123) yaitu antibiotik eritromisin sebagai kontrol positif menghasilkan warna biru yang menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri, sumuran (A 456) kontrol bakteri yang berisikan media dan bakteri uji menghasilkan warna pink menandakan bahwa media MHB yang digunakan tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri sehingga sumuran berwarna pink dan bakteri dapat tumbuh, sumuran (A 789) kontrol media yang berisikan hanya media MHB saja menghasilkan warna biru, yang menandakan media yang digunakan tidak terkontaminasi bakteri, dan sumuran (A 101112) DMSO 10% sebagai kontrol negatif dan pelarut ekstrak menghasilkan warna pink, yang menandakan bahwa pelarut DMSO 10% tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

4.3.2 Skrining Antibakteri *Staphylococcus epidermis*

Hasil skrining antibakteri *Staphylococcus epidermis* setelah di tetesin indikator Resazurin dapat dilihat pada Gambar 7.

Mikrotiter Plate Bioassay



Gambar 7. Hasil skrining antibakteri *Staphylococcus epidermidis*

Keterangan : Kontrol (Eritromisin, Bakteri, Media, DMSO),
 Sumuran Positif Antibakteri, Sumuran Negatif Antibakteri.

Keterangan isi seluruh sumuran skrining antibakteri *Staphylococcus epidermidis* pada 96-well plate dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Isi sumuran skrining antibakteri *Staphylococcus epidermidis*

Sumuran	Sampel Uji			
	123	456	789	101112
A	Kontrol Positif Eritromisin	Kontrol Bakteri	Kontrol Media	Kontrol Negatif DMSO 10%
B	Metanol <i>Holothuria scabra</i> basah	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> basah	N-heksana <i>Holothuria scabra</i> basah	-
C	Metanol <i>Holothuria scabra</i> kering	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> kering	N-heksan <i>Holothuria scabra</i> kering	-

Hasil menunjukkan bahwa sampel yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah (sumuran B 123) dan etil asetat *Holothuria scabra* basah (sumuran B 456). Indikator Resazurin pada sumuran tersebut menghasilkan warna biru yang menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri.

Sumuran kontrol (A 123) yaitu antibiotik eritromisin sebagai kontrol positif menghasilkan warna biru yang menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri, sumuran (A 456) kontrol bakteri yang berisikan media dan bakteri uji menghasilkan

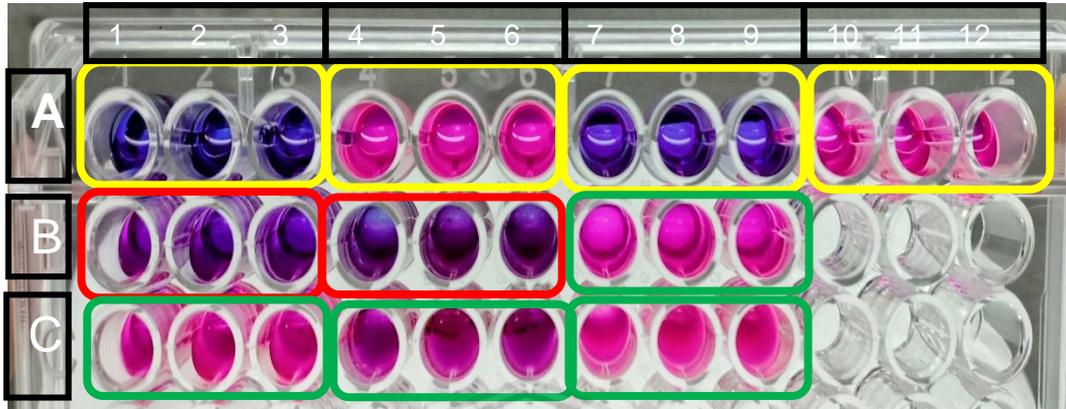
warna pink menandakan bahwa media MHB yang digunakan tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri sehingga sumuran berwarna pink dan bakteri dapat tumbuh, sumuran (A 789) kontrol media yang berisikan hanya media MHB saja menghasilkan warna biru, yang menandakan media yang digunakan tidak terkontaminasi bakteri, dan sumuran (A 101112) DMSO 10% sebagai kontrol negatif dan pelarut ekstrak menghasilkan warna pink, yang menandakan bahwa pelarut DMSO 10% tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

4.3.3 Skrining Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil skrining antibakteri *Staphylococcus aureus* setelah di tetesin indikator Resazurin dapat dilihat pada Gambar 8.



Mikrotiter Plate Bioassay



Gambar 8. Hasil skrining antibakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan : Kontrol (Eritromisin, Bakteri, Media, DMSO),
 Sumuran Positif Antibakteri, Sumuran Negatif Antibakteri.

Keterangan isi seluruh sumuran skrining antibakteri *Staphylococcus aureus* pada 96-well plate dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Isi sumuran skrining antibakteri *Staphylococcus aureus*

Sumuran	Sampel Uji			
	123	456	789	101112
A	Kontrol Positif Eritromisin	Kontrol Bakteri	Kontrol Media	Kontrol Negatif DMSO 10%
B	Metanol <i>Holothuria scabra</i> basah	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> basah	N-heksana <i>Holothuria scabra</i> basah	-
C	Metanol <i>Holothuria scabra</i> kering	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> kering	N-heksan <i>Holothuria scabra</i> kering	-

Hasil Indikator Resazurin menunjukkan pada sumuran metanol *Holothuria scabra* basah (B 123) dan etil asetat *Holothuria scabra* basah (B 456) menghasilkan warna biru yang kurang sempurna, karena pada seluruh sumuran hanya dua ekstrak tersebut yang menghasilkan warna biru sehingga tetap di ujikan MIC untuk mengetahui apakah ekstrak tersebut memiliki kemampuan sebagai antibakteri..

Sumuran kontrol (A 123) yaitu antibiotik eritromisin sebagai kontrol positif menghasilkan warna biru yang menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri, sumuran (A 456) kontrol bakteri yang berisikan media dan bakteri uji menghasilkan warna pink menandakan bahwa media MHB yang digunakan tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri sehingga sumuran berwarna pink dan bakteri dapat tumbuh, sumuran (A 789) kontrol media yang berisikan hanya media MHB saja menghasilkan warna biru, yang menandakan media yang digunakan tidak terkontaminasi bakteri, dan sumuran (A 101112) DMSO 10% sebagai kontrol negatif dan pelarut ekstrak menghasilkan warna pink, yang menandakan bahwa pelarut DMSO 10% tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

Hasil keseluruhan skrining antibakteri dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil seluruh skrining antibakteri

Bakteri Uji	Hasil Uji	Metanol		Etil asetat		n-heksana	
		<i>Holothuria scabra</i>		<i>Holothuria scabra</i>		<i>Holothuria scabra</i>	
		Basah	Kering	Basah	Kering	Basah	Kering
<i>Propionibacterium acnes</i>	(+/-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
	MIC	UJI	-	UJI	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermis</i>	(+/-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
	MIC	UJI	-	UJI	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	(+/-)		(-)		(-)	(-)	(-)
	MIC	UJI	-	UJI	-	-	-

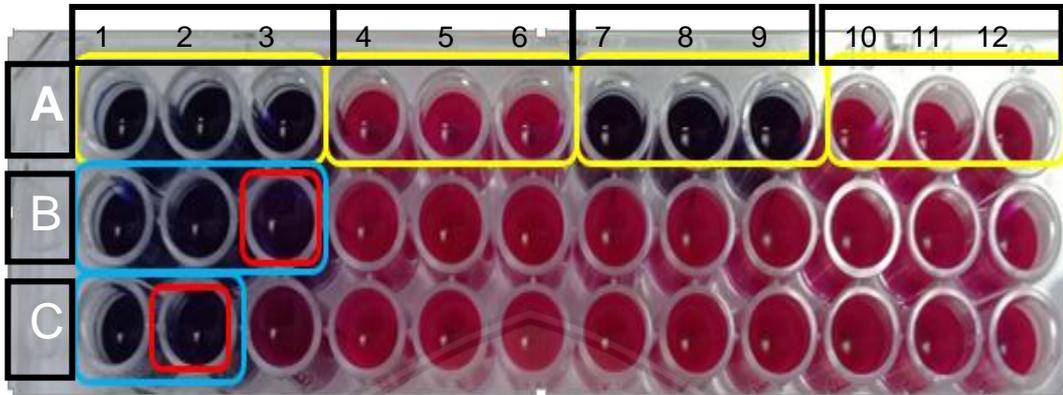
Ekstrak sampel n-heksana tidak mampu menarik senyawa bioaktif pada tubuh *Holothuria scabra* basah, sehingga tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri jerawat yang di uji (Pranoto, 2012)

4.4 MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Bakteri uji yang digunakan pada saat uji MIC memiliki OD (*Optical Density*) sebesar $0.5 = 10^8$ CFU/mL = 0.5 McFarland standard. Uji MIC dilakukan ketika hasil (+) skrining antibakteri telah didapatkan. Uji MIC pada penelitian ini, hanya dilakukan pada dua ekstrak sampel, yaitu ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah, dan ekstrak sampel etil asetat *Holothuria scabra* basah. Konsentrasi yang dipakai pada MIC mengikuti konsentrasi pada uji skrining antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, dimana metanol 40 mg/mL dan etil asetat sebesar 20 mg/mL. Hasil MIC terhadap ketiga bakteri jerawat adalah sebagai berikut.

4.4.1 MIC *Propionibacterium acnes*

Hasil uji MIC antibakteri *Propionibacterium acnes* setelah di tetesin indikator Resazurin dapat dilihat pada Gambar 9



Gambar 9. Hasil MIC *Propionibacterium acnes*

Keterangan : Kontrol (Eritromisin, Bakteri, Media, DMSO),
 Sumuran nilai MIC, Sumuran rentang nilai antibakteri.

Keterangan isi seluruh sumuran uji MIC *Propionibacterium acnes* pada 96-well plate dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Isi sumuran MIC *Propionibacterium acnes*

Sumuran	Sampel Uji				Konsentrasi Ekstrak (mg/mL)	MIC (mg/mL)
	123	456	789	101112		
A	Kontrol (+)	Kontrol Bakteri	Kontrol Media	Kontrol (-)	-	-
B	Metanol <i>Holothuria scabra</i> basah				40	10
C	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> basah				20	10

Seluruh isi sumuran A yaitu sumuran kontrol positif, kontrol bakteri, kontrol media, dan kontrol negatif, menghasilkan warna yang sama dengan sumuran kontrol pada skrining antibakteri yang berarti seluruh sumuran tidak terjadi kontaminasi dan menghasilkan warna yang sesuai.

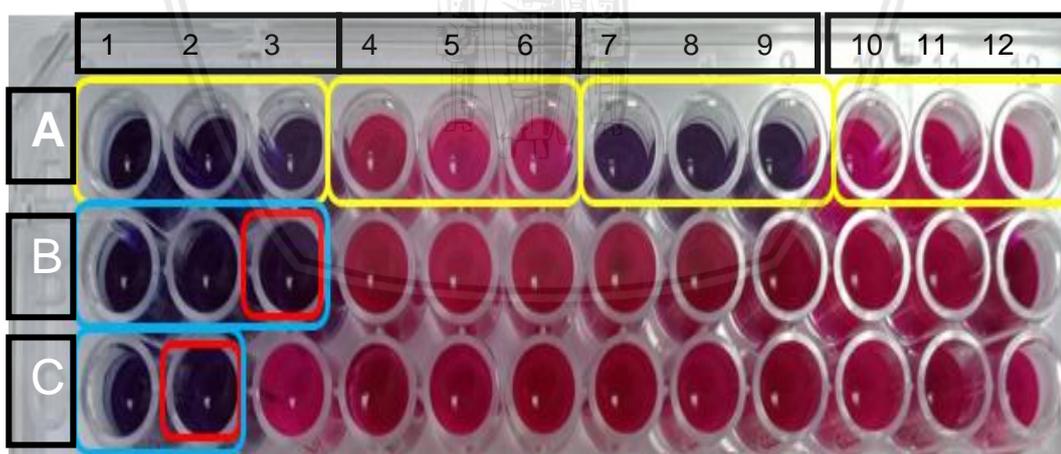
Hasil MIC pada sumuran B yaitu sumuran metanol *Holothuria scabra* basah, terdapat pada sumuran B3. Sumuran B3 adalah hasil MIC dengan konsentrasi 10 mg/mL. Konsentrasi yang didapatkan berasal dari pengenceran sumuran B2 dan

sumuran B1, dimana konsentrasi sumuran B1 adalah 40 mg/mL, dan sumuran B2 memiliki konsentrasi setengahnya B1 yaitu 20 mg/mL, dan nilai konsentrasi dari sumuran B3 adalah setengahnya dari sumuran B2 yang menjadi nilai MIC atau nilai minimum ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* sebesar 10 mg/mL. Seluruh sumuran B yang berwarna biru, yaitu B1, B2, dan B3 akan dilakukan uji lanjutan yaitu uji MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*).

Hasil MIC pada sumuran C yaitu sumuran etil asetat *Holothuria scabra* basah, terdapat pada sumuran C2. Sumuran C2 adalah hasil MIC dengan konsentrasi 10 mg/mL. Konsentrasi yang didapatkan berasal dari pengenceran sumuran C1, dimana konsentrasi sumuran C1 adalah 20 mg/mL, dan sumuran C2 memiliki konsentrasi setengahnya C1 yang menjadi nilai MIC atau nilai minimum ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* sebesar 10 mg/mL. Seluruh sumuran C yang berwarna biru, yaitu C1, dan C2 akan dilakukan uji lanjutan yaitu uji MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*).

4.4.2 MIC *Staphylococcus epidermis*

Hasil uji MIC antibakteri *Staphylococcus epidermis* setelah di tetesin indikator Resazurin dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil MIC *Staphylococcus epidermis*

Keterangan : Kontrol (Eritromisin, Bakteri, Media, DMSO),
 Sumuran nilai MIC, Sumuran rentang nilai antibakteri.

Keterangan isi seluruh sumuran uji MIC *Staphylococcus epidermis* pada 96-well plate dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Isi sumuran MIC *Staphylococcus epidermis*

Sumuran	Sampel Uji				Konsentrasi Ekstrak (mg/mL)	MIC (mg/mL)
	123	456	789	101112		
A	Kontrol (+)	Kontrol Bakteri	Kontrol Media	Kontrol (-)	-	-
B	Metanol <i>Holothuria scabra</i> basah				40	10
C	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> basah				20	10

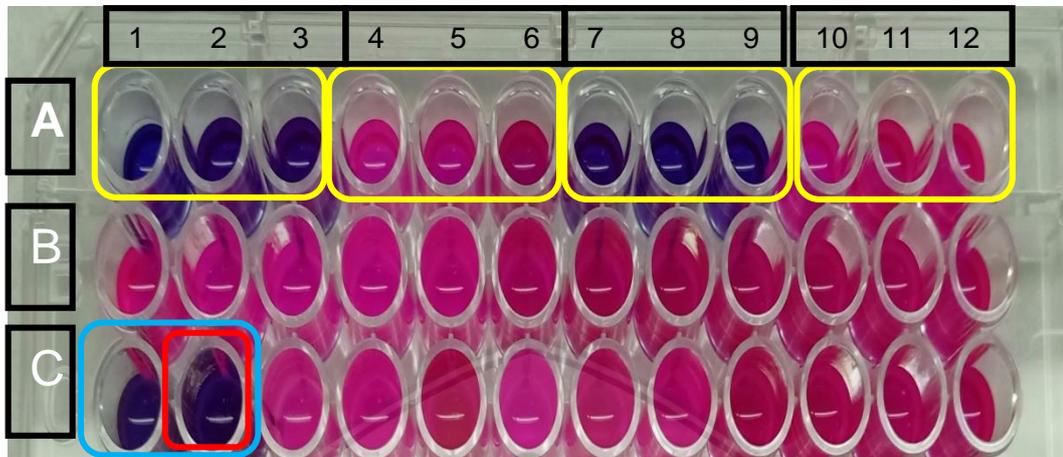
Seluruh isi sumuran A yaitu sumuran kontrol positif, kontrol bakteri, kontrol media, dan kontrol negatif, menghasilkan warna yang sama dengan sumuran kontrol pada skrining antibakteri yang berarti seluruh sumuran tidak terjadi kontaminasi dan menghasilkan warna yang sesuai.

Hasil MIC pada sumuran B yaitu sumuran metanol *Holothuria scabra* basah, terdapat pada sumuran B3. Sumuran B3 adalah hasil MIC dengan konsentrasi 10 mg/mL. Konsentrasi yang didapatkan berasal dari pengenceran sumuran B2 dan sumuran B1, dimana konsentrasi sumuran B1 adalah 40 mg/mL, dan sumuran B2 memiliki konsentrasi setengahnya B1 yaitu 20 mg/mL, dan nilai konsentrasi dari sumuran B3 adalah setengahnya dari sumuran B2 yang menjadi nilai MIC atau nilai minimum ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermis* sebesar 10 mg/mL. Seluruh sumuran B yang berwarna biru, yaitu B1, B2, dan B3 akan dilakukan uji lanjutan yaitu uji MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*).

Hasil MIC pada sumuran C yaitu sumuran etil asetat *Holothuria scabra* basah, terdapat pada sumuran C2. Sumuran C2 adalah hasil MIC dengan konsentrasi 10 mg/mL. Konsentrasi yang didapatkan berasal dari pengenceran sumuran C1, dimana konsentrasi sumuran C1 adalah 20 mg/mL, dan sumuran C2 memiliki konsentrasi setengahnya C1 yang menjadi nilai MIC atau nilai minimum ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermis* sebesar 10 mg/mL. Seluruh sumuran C yang berwarna biru, yaitu C1, dan C2 akan dilakukan uji lanjutan yaitu uji MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*).

4.4.3 MIC *Staphylococcus aureus*

Hasil uji MIC antibakteri *Staphylococcus aureus* setelah di tetesin indikator Resazurin dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hasil MIC *Staphylococcus aureus*

Keterangan : Kontrol (Eritromisin, Bakteri, Media, DMSO),
 Sumuran nilai MIC, Sumuran rentang nilai antibakteri.

Keterangan isi seluruh sumuran uji MIC *Staphylococcus aureus* pada 96-well plate dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Isi sumuran *Staphylococcus aureus*

Sumuran	Sampel Uji				Konsentrasi Ekstrak (mg/mL)	MIC (mg/mL)
	123	456	789	101112		
A	Kontrol (+)	Kontrol Bakteri	Kontrol Media	Kontrol (-)	-	-
B	Metanol <i>Holothuria scabra</i> basah				40	10
C	Etil asetat <i>Holothuria scabra</i> basah				20	10

Seluruh isi sumuran A yaitu sumuran kontrol positif, kontrol bakteri, Kontrol media, dan kontrol negatif, menghasilkan warna yang sama dengan sumuran kontrol pada skrining antibakteri yang berarti seluruh sumuran tidak terjadi kontaminasi dan menghasilkan warna yang sesuai.

Seluruh sumuran B yaitu sumuran metanol *Holothuria scabra* basah, menghasilkan warna pink yang menandakan bahwa masih adanya pertumbuhan

bakteri pada sumuran tersebut sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* bahkan sampai konsentrasi 40 mg/mL.

Hasil MIC pada sumuran C yaitu sumuran etil asetat *Holothuria scabra* basah, terdapat pada sumuran C2. Sumuran C2 adalah hasil MIC dengan konsentrasi 10 mg/mL. Konsentrasi yang didapatkan berasal dari pengenceran sumuran C1, dimana konsentrasi sumuran C1 adalah 20 mg/mL, dan sumuran C2 memiliki konsentrasi setengahnya C1 yang menjadi nilai MIC atau nilai minimum ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 10 mg/mL. Seluruh sumuran C yang berwarna biru, yaitu C1, dan C2 akan dilakukan uji lanjutan yaitu uji MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*).

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini baik dari hasil ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah maupun etil asetat *Holothuria scabra* basah memiliki daya hambat terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* sama-sama memiliki daya hambat dengan konsentrasi 10 mg/mL, kecuali pada bakteri *Staphylococcus aureus* hanya ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah yang memiliki daya hambat terhadap bakteri tersebut.

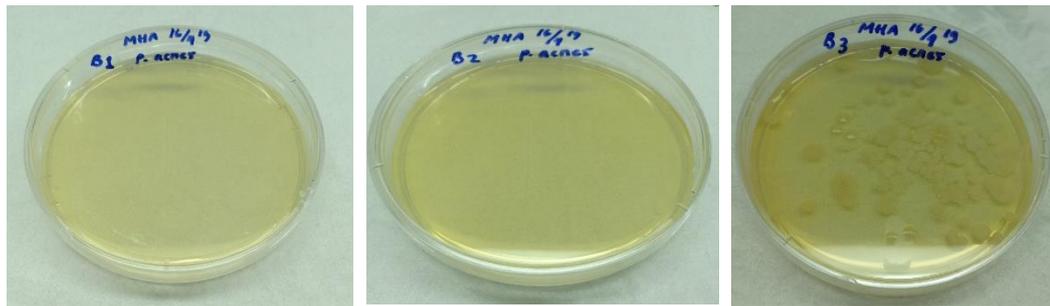
Ekstrak etil asetat menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan ekstrak metanol, dimana etil asetat *Holothuria scabra* basah mampu menghambat ketiga bakteri jerawat. Hal ini disebabkan karena senyawa antibakteri atau senyawa bioaktif pada *Holothuria scabra* lebih banyak terlarut pada pelarut semi polar dibandingkan dengan pelarut polar Nimah (2012). Semakin kecil nilai MIC, maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya. Nilai MIC menunjukkan konsentrasi ekstrak terkecil yang masih menghambat mikroba uji. Jika nilai MIC makin kecil maka aktivitas antimikroba ekstrak bakteri tersebut makin besar (Purnama, 2018).

4.5 MBC (*Minimum Bacterisidal Concentration*)

Uji MBC dilakukan ketika hasil MIC antibakteri telah didapatkan. Uji MBC pada penelitian ini, hanya dilakukan pada seluruh sumuran uji ekstrak sampel yang berwarna biru pada saat uji MIC. Sebanyak 1 mL isi sumuran B3, B2, B1, C2 dan C1 yang telah ditanam pada media MHA adalah sebagai berikut.

4.5.1 MBC *Propionibacterium acnes*

Hasil uji MBC *Propionibacterium acnes* ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 12.

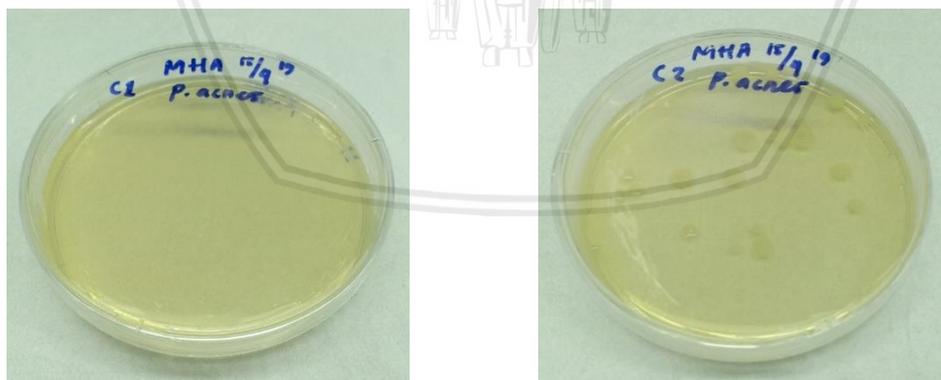


Sumuran B1 (Konsentrasi 40 mg/mL) Sumuran B2 (Konsentrasi 20 mg/mL) Sumuran B3 (Konsentrasi 10 mg/mL)

Gambar 12. Hasil uji MBC *Propionibacterium acnes* ekstrak metanol

Hasil uji MBC menunjukkan bahwa sumuran B2 (konsentrasi 20 mg/mL) dan sumuran B1 (konsentrasi 40 mg/mL) tidak ada pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*, namun sumuran B3 pada media MHA masih ada pertumbuhan bakteri, sehingga dengan konsentrasi 10 mg/mL hanya mampu menghambat pertumbuhan dan tidak mampu membunuh bakteri *Propionibacterium acnes*. Ekstrak minimum yang dibutuhkan metanol *Holothuria scabra* basah untuk membunuh bakteri *Propionibacterium acnes* adalah sebesar 20 mg/mL yang disebut sebagai nilai MBC ekstrak tersebut.

Hasil uji MBC *Propionibacterium acnes* ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 13.



Sumuran C1 (Konsentrasi 20 mg/mL) Sumuran C2 (Konsentrasi 10 mg/mL)

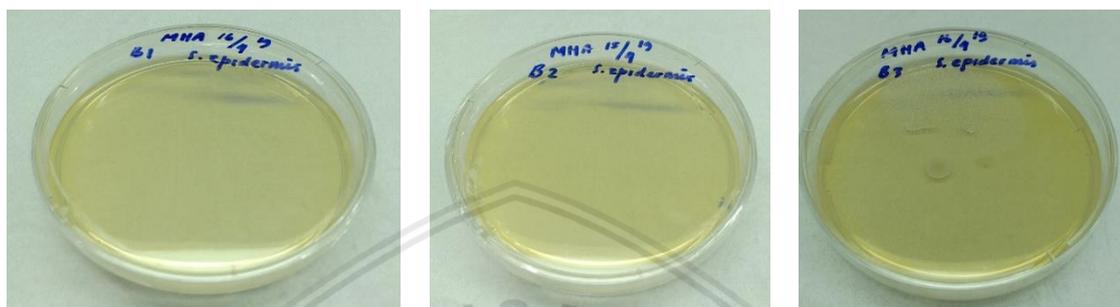
Gambar 13. Hasil Uji MBC *Propionibacterium acnes* ekstrak etil asetat

Hasil uji MBC menunjukkan bahwa sumuran C1 (konsentrasi 20 mg/mL) tidak ada pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*, namun sumuran C2 pada media MHA masih ada pertumbuhan bakteri, sehingga dengan konsentrasi 10 mg/mL hanya mampu menghambat pertumbuhan dan tidak mampu membunuh

bakteri *Propionibacterium acnes*. Ekstrak minimum yang dibutuhkan etil asetat *Holothuria scabra* basah untuk membunuh bakteri *Propionibacterium acnes* adalah sebesar 20 mg/mL yang dikenal sebagai nilai MBC ekstrak tersebut.

4.5.2 MBC *Staphylococcus epidermis*

Hasil uji MBC *Staphylococcus epidermis* ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 14.



Sumuran B1

(Konsentrasi 40 mg/mL)

Sumuran B2

(Konsentrasi 20 mg/mL)

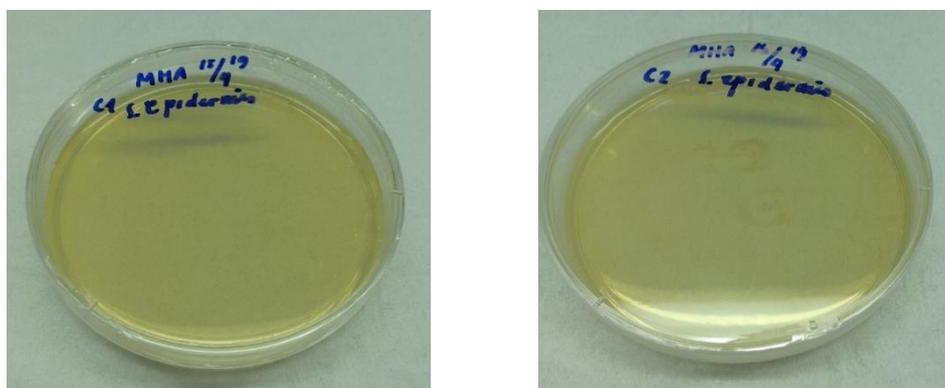
Sumuran B3

(Konsentrasi 10 mg/mL)

Gambar 14. Hasil MBC *Staphylococcus epidermis* ekstrak metanol

Hasil uji MBC menunjukkan bahwa sumuran B2 (konsentrasi 20 mg/mL) dan sumuran B1 (konsentrasi 40 mg/mL) tidak ada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermis*, namun sumuran B3 pada media MHA masih ada pertumbuhan bakteri, sehingga dengan konsentrasi 10 mg/mL hanya mampu menghambat pertumbuhan dan tidak mampu membunuh bakteri *Staphylococcus epidermis*. Ekstrak minimum yang dibutuhkan metanol *Holothuria scabra* basah untuk membunuh bakteri *Staphylococcus epidermis* adalah sebesar 20 mg/mL yang dikenal sebagai nilai MBC ekstrak tersebut.

Hasil uji MBC *Staphylococcus epidermis* ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 15.



Sumuran C1 (Konsentrasi 20 mg/mL)

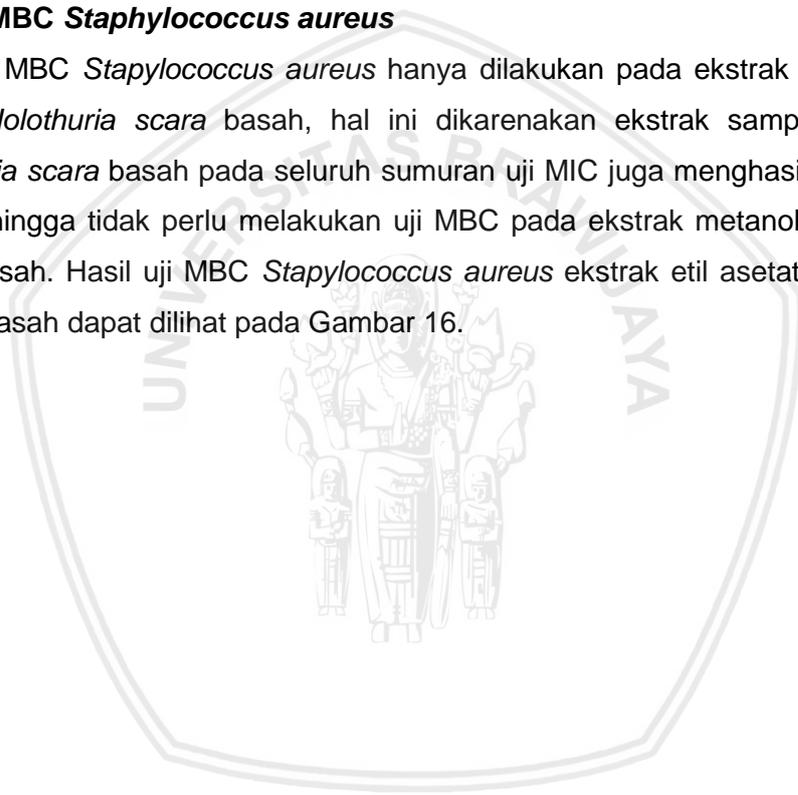
Sumuran C2 (Konsentrasi 10 mg/mL)

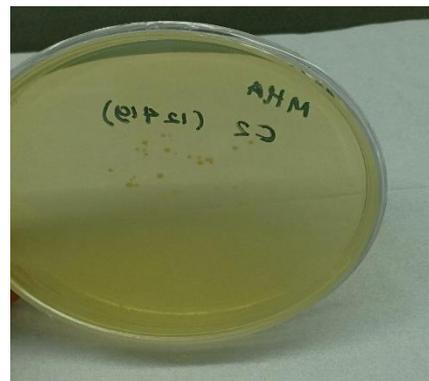
Gambar 15. Hasil MBC *Staphylococcus epidermis* ekstrak etil asetat

Hasil uji MBC menunjukkan bahwa sumuran C1 (konsentrasi 20 mg/mL) tidak ada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermis*, namun sumuran C2 pada media MHA masih ada pertumbuhan bakteri, sehingga dengan konsentrasi 10 mg/mL hanya mampu menghambat pertumbuhan dan tidak mampu membunuh bakteri *Staphylococcus epidermis*. Ekstrak minimum yang dibutuhkan etil asetat *Holothuria scabra* basah untuk membunuh bakteri *Staphylococcus epidermis* adalah sebesar 20 mg/mL yang dikenal sebagai nilai MBC ekstrak tersebut.

4.5.3 MBC *Staphylococcus aureus*

Uji MBC *Staphylococcus aureus* hanya dilakukan pada ekstrak sampel etil asetat *Holothuria scabra* basah, hal ini dikarenakan ekstrak sampel Metanol *Holothuria scabra* basah pada seluruh sumuran uji MIC juga menghasilkan warna pink, sehingga tidak perlu melakukan uji MBC pada ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah. Hasil uji MBC *Staphylococcus aureus* ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 16.





Sumuran C1 (Konsentrasi 20 mg/mL)

Sumuran C2 (Konsentrasi 10 mg/mL)

Gambar 16. Hasil MBC *Staphylococcus aureus* ekstrak etil asetat

Hasil uji MBC menunjukkan bahwa sumuran C1 (konsentrasi 20 mg/mL) tidak ada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, namun sumuran C2 pada media MHA masih ada pertumbuhan bakteri, sehingga dengan konsentrasi 10 mg/mL hanya mampu menghambat pertumbuhan dan tidak mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Ekstrak minimum yang dibutuhkan etil asetat *Holothuria scabra* basah untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 20 mg/mL yang dikenal sebagai nilai MBC ekstrak tersebut.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini baik dari hasil ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah maupun etil asetat *Holothuria scabra* basah memiliki daya bunuh terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* sama-sama memiliki daya bunuh dengan konsentrasi 20 mg/mL, kecuali pada bakteri *Staphylococcus aureus* hanya ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah yang memiliki daya bunuh terhadap bakteri tersebut. Ekstrak etil asetat menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan ekstrak metanol, dimana etil asetat *Holothuria scabra* basah mampu membunuh ketiga bakteri jerawat. Hal ini dapat dikarenakan bakteri mempunyai sifat dan ketahanan yang berbeda-beda terhadap suatu antibakteri, walaupun bakteri tersebut termasuk dalam satu golongan yang sama yaitu merupakan golongan bakteri gram positif (Mulyani, 2017).

4.6 Kandungan Bioaktif

Uji kandungan bioaktif adalah uji secara kualitatif menggunakan metode uji fitokimia untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam *Holothuria scabra*. Uji fitokimia dilakukan pada kedua ekstrak, yaitu ekstrak metanol

Holothuria scabra basah dan ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah. Hasil uji kandungan bioaktif adalah sebagai berikut.

4.6.1 Saponin

Hasil uji Saponin ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Hasil uji Saponin (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)

Hasil menunjukkan bahwa metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah positif mengandung saponin, hal ini dikarenakan kedua tabung setelah dilakukan pengujian terdapat busa dan dapat bertahan selama sepuluh menit.

Mekanisme kerja Saponin pada *Holothuria scabra* sebagai antibakteri yaitu menurunkan tegangan permukaan sel bakteri yang berakibat naiknya permeabilitas atau kebocoran sel sehingga senyawa intrasel akan keluar. Saponin juga berperan dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis (Rante, 2017).

4.6.2 Flavonoid

Hasil uji Flavonoid ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Hasil uji Flavonoid (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)

Hasil menunjukkan bahwa metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah negatif mengandung Flavonoid, hal ini dikarenakan hasil pengujian tidak berubah menjadi warna merah.

4.6.3 Tanin

Hasil uji Tanin ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 19.

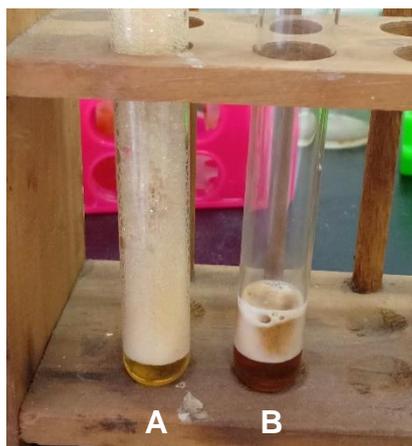


Gambar 19. Hasil uji Tanin (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)

Hasil menunjukkan bahwa metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah negatif mengandung Tanin, hal ini dikarenakan hasil pengujian tidak berubah menjadi warna biru atau hijau.

4.6.4 Titerpenoid

Hasil uji Titerpenoid ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 20.



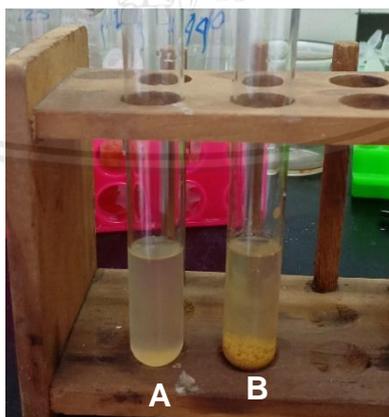
Gambar 20. Hasil uji Titerpenoid (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)

Hasil menunjukkan bahwa metanol *Holothuria scabra* basah negatif mengandung Titerpenoid, sedangkan etil asetat *Holothuria scabra* basah positif mengandung Titerpenoid. Hal ini dikarenakan metanol *Holothuria scabra* basah tidak berubah warna menjadi merah, sedangkan etil asetat *Holothuria scabra* basah setelah pengujian berubah warna menjadi merah.

Mekanisme kerja Titerpenoid pada *Holothuria scabra* sebagai antibakteri yaitu terlibatnya dalam kerusakan membran oleh gugus lipofiliknya (Sukmawati, 2019).

4.6.5 Alkaloid

Hasil uji Alkaloid ekstrak Metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Hasil uji Alkaloid (A pelarut metanol, B pelarut etil asetat)

Hasil menunjukkan bahwa metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah positif mengandung Alkaloid, hal ini dikarenakan hasil pengujian pada kedua tabung menghasilkan endapan kuning, bahkan pada tabung

pengujian etil asetat *Holothuria scabra* basah endapan kuning terlihat jauh lebih jelas dibandingkan tabung metanol *Holothuria scabra* basah.

Mekanisme kerja Alkaloid pada *Holothuria scabra* sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Selain itu, alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat enzim topoisomerase yang mempunyai peran sangat penting dalam proses replikasi, transkripsi dan rekombinasi DNA dengan cara memotong dan menyambungkan untai tunggal atau untai ganda DNA (Sukmawati, 2019).

Hasil keseluruhan uji kandungan bioaktif ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah dan etil asetat *Holothuria scabra* basah dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil uji kandungan bioaktif

No.	Uji	Metanol	Etil asetat	Keterangan
1.	Saponin	+	+	Terbentuk busa
2.	Flavonoid	-	-	Tidak berwarna merah
3.	Tanin	-	-	Tidak berwarna Hijau atau biru
4.	Titerpenoid	-	+	metanol (tidak berwarna merah), etil asetat berwarna merah
5.	Alkaloid	+	+	Terbentuk endapan kuning

Kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak metanol dan etil asetat yang dominan yaitu saponin dan alkaloid, sedangkan untuk titerpenoid hanya terdapat pada ekstrak etil asetat. Senyawa bioaktif yang terkandung pada *Holothuria scabra* memiliki potensi sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Farouk *et al.*, (2007), yang menyatakan bahwa kandungan metabolit sekunder dalam *Holothuria scabra* yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri paling baik adalah golongan turunan terpenoid, diantaranya saponin dan titerpenoid. Golongan senyawa tersebut memiliki polisakarida sehingga dapat menembus membran sel bakteri, sehingga sel tersebut rusak.

Menurut Widyawati (2011), metanol secara efektif dapat mengekstrak senyawa saponin, alkaloid, tanin, dan flavonoid, sedangkan etil asetat dilaporkan dapat mengekstrak senyawa saponin, alkaloid, titerpenoid, dan flavonoid. Namun, hasil MIC dan MBC menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah memiliki potensi lebih baik dalam menghambat bahkan membunuh bakteri

uji, hal ini dikarenakan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etil asetat lebih banyak dibanding dengan ekstrak metanol. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak metanol hanya mengandung dua senyawa kandungan bioaktif dari empat senyawa yang di uji, sedangkan ekstrak etil asetat mengandung tiga senyawa kandungan bioaktif dari empat senyawa yang di uji, sehingga kinerja ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah dalam menghambat bahkan membunuh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus aureus* lebih baik dibanding dengan ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah.



5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Uji aktivitas antibakteri ekstrak teripang pasir (*Holothuria Scabra*) terhadap bakteri jerawat *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus aureus*, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

1. Pengaruh perbedaan pelarut terhadap potensi antibakteri ekstrak *Holothuria scabra* menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda. Hasil rendemen paling banyak terdapat pada ekstrak metanol, sedangkan hasil rendemen paling sedikit terdapat pada ekstrak n-heksana.
2. Ekstrak *Holothuria scabra* kering tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri, hal ini dikarenakan seluruh senyawa bioaktif pada ekstrak tersebut telah rusak pada saat pengeringan yang melalui tahap penyiangan, pencucian, perebusan, pengasapan, dan akhirnya pengeringan. Sehingga memiliki kemampuan sebagai antibakteri hanya pada *Holothuria scabra* basah.
3. Hasil MIC pelarut metanol dan pelarut etil asetat ekstrak *Holothuria scabra* basah terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* sebanyak 10 mg/mL, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* hanya dapat dihambat oleh pelarut etil asetat ekstrak *Holothuria scabra* basah sebesar 10 mg/mL.
Hasil MBC pelarut metanol dan etil ekstrak *Holothuria scabra* basah terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis* sebanyak 20 mg/mL, sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* hanya dapat dibunuh oleh pelarut etil asetat ekstrak *Holothuria scabra* basah sebesar 20 mg/mL.
4. Hasil uji kandungan bioaktif menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Holothuria scabra* basah mengandung saponin dan alkaloid. Sedangkan ekstrak etil asetat *Holothuria scabra* basah mengandung saponin, alkaloid, dan terpenoid.

5.2 Saran

Saran yang dapat penulis sampaikan adalah sebagai berikut :

1. Sampel *Holothuria scabra* kering sebaiknya pengeringan dilakukan tanpa perebusan dan pengasapan yang menyebabkan rusaknya senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya, sebaiknya bahan baku yang didapatkan dari nelayan cukup di keringkan dengan oven selama beberapa hari.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut sehingga *Holothuria scabra* dapat dijadikan produk dan dijual untuk pengobatan jerawat dari bahan alami.



DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, T.J., Nagarajan J., dan. Shanmugan S.A. 2002. Antimicrobial Substances of Potential Biomedical Importance from Holothurian Species. [Indian Journal of Marine Science]. 161-164 hlm.
- Andrews, J.M., 2001. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(Supplement S1), pp.5-16.
- Ardina, Y., 2011, Pengembangan Formulasi Sediaan Gel Anti Jerawat Serta Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya A Linn.*) Fakultas Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Assidqi K, Wahyu T, dan Setyawati S. 2012. Potensi ekstrak daun patikan kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* scara in vitro. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2), 113-124.
- Apriliana, E, dan Adlia. U. S. 2016. Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata*) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. Fakultas Kedokteran, Universtas Lampung.
- Bordbar, S., Farooq A., dan Nazamid S. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods—A Review. (*Marine Drugs Journal*). 1761-1805 hlm.
- Bwanga, F., Moses, J., Melles, H., Sven, H. 2010. Evaluation of seven tests for the rapid detection of multidrug-resistant tuberculosis in Uganda. *Int. J. Tuberc. Lung Dis* 14:890–895.
- Carolia, N dan Wuslin, N. 2016. Potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sebagai alternatif terapi *acne vulgaris*. Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.
- Dwidjoseputro, 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Penerbit Djambatan. Halaman 38,77.
- Tobo, H. F., Mufidah, Taebe, H. B., Makhmud, A.I., 2001. Fitokimia I (Ekstraksi Komponen Kimia Bahan Alam). Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Farouk, A.E., Faizal A.H.G., dan Ridzwan B.H.. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 64-69 hlm.
- Garrity, G. M., Bell, J. A. dan Lilburn, T. G., 2004, *Taxonomic Outline of The Procaryotes: Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, 2nd ed, New York, Release 5,0 Spring-Verlag, p. 46.
- 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. Jurusan Kimia UIN, Malang.
- Jappe, U 2003, 'Pathological Mechanism of Acne with Special Emphasis on *Propionibacterium acne* and Related Therapy', *Acta Dermatovenereologica*, vol. 83, pp. 241-248.s
- Kordi, M. G. H., 2010, Cara Gampang Membudidayakan Teripang, Lily Publisher, Yogyakarta.
- Kumalasari, E, Nanik, S. 2011. Aktivitas antifungi ekstrak etanol batang binahong (*Anredera cordifolia (Tenore) Steen.*) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

- Lauma, S. W, Damajanty, H. C, Hutagalung, B. 2015. Uji efektifitas perasan air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Jurnal ilmiah Farmasi, Unsrat. Vol. 4 No. 4
- Martoyo, J., N. Aji, dan T. Winanto, 2006, Budidaya Teripang, Cet. 6, edisi revisi, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Mulyani, Y.W, Dadan. H, Isbiyantoro, Yenny, F. 2017. *Antibacterial Activity of (Sauropus androgynus (L) Merr) Extract Againsts Propionibacterium acnes and Staphylococcus* Fakultas Farmas, Universitas Tulang Bawang, Lampung. Vol. 6. No. 2
- Nimah, S. Widodo F, dan Agus T. 2012. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. Jurnal Perikanan no 1. Vol.2.
- Panji L, Yuliani S, 2005. Teknologi ekstraksi minyak nilam . BB Pasca panen.
- Petrussa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., Vianello, A.2013. Plant Flavonoids Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses. *International Journal of Molecular Sciences*14 14950-14973.
- Purnama, A. A, dan Eti M. 2018. Antibacterial Bioactivity Seagrass *Thalassia hemprichii* and *Enhalus acoroide*. Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.) 6(1).
- Pranoto, E.P., Widodo F. M. dan Delianis, P. 2012. Kajian aktivitas bioaktif ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap jamur *Candida albicans*. Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan. Vol.1 no 1.
- Pratiwi S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: penerbit Eirlangga.
- Rante, B.K, Youla, A, Paulina, N. 2017. Uji daya hambat getah kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Jurnal e-GiGi (eG), Volume 5 Nomor 2.
- Reynolds, J. E. F. 1996. Martindale, The Extra Pharmacopeia 31th Edition. The Royal Pharmaceutical Society Press. London. p : 114 – 117.
- Roihanah, S. Sukoso dan Andayani, S. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak teripang *Holothuria* sp. Terhadap akteri *Aeromonas hydrophilia* secara in viro. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Salni., Marisa H., dan Mukti. R.W. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum benth*) dan Penentuan Nilai KHM-nya. Jurnal Penelitian Sains Vol 14 No 1 (D) 14109. Fakultas Biologi MIPA Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan
- Sari, E. M, Maruf, W.F, Sumardianto., 2014. Kajian senyawa bioaktif ekstrak teripang hitam (*Holothuria edulis*) basah dan kering sebagai antibakteri alami. Jurnal pengolahan dan bioteknologi hasil perikanan, 3(4):16-24.
- Sari, I. P, M. Agus, W, dan Savante, A. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak teripang butoh keling (*Holothuria leucospilota*) dari pulau Lemukutan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*. JKK, Volume 4(4), halaman 21-28.
- Sarker, S. D., Lutfun, N., Yashodharan, K. 2007. *Microtitre Plate-Based Antibacterial Assay Incorporating Resazurin as an Indicator of Cell Growth, and Its Application in the in Vitro Antibacterial Screening of Phytochemicals. Methods.* 42: 321 –24.
- Soeparman S, Jatmiko P, 2009. Kinerja ekstraksi biji jarak pagar dengan proses pelarutan (*solvent extraction*) Universitas Brawijaya Malang.
- Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. Bagian Mikrobiologi, fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

- Sukmawati, I.K, Ari. Y, Widhya.A, Ade. Z. 2019. *Antibacterial activity of extract and fraction fro Shiitake mushroom (Lentinula edodes) against acne bacteria. Indonesian journal of pharmaceutical science and technology. IJPST 6(1).*
- Tiwari, P. Kumar, B. Kaur, M. Kaur, G. Kaur, H., 2011. Phytochemical screening and extraction A review. *Internationale Pharmaceutica sciencia. Vol.1 Issue. 1.*
- Wafa, J.A, Adi. T. K, Hanapi, Fasya., 2014. Penentuan Kapasitas Antioksidan dan Kandungan fenolik Total Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) dari Pantai Kenjeran Surabaya, *Jurnal Achemy, 3 (1): 76-83.*
- Wibowo, S. Yunizal.1997. *Teknologi Penanganan dan Pengolahan Teripang (Holothuriadea).* Jakarta: IPPL Slipi.
- Widodo, A., 2013. *Budidaya Teripang.* Pustaka Baru. Hal 2-19.
- Widyawati, P.S. 2011. Aktivitas antioksidan ekstrak metanolik daun beluntas (*Pluchea indica Less*) dan fraksinya serta kemampuan mencegah warmed over flavor pada daging Itik yang telah dipanaskan. IPB, Bogor.
- Yusuf, 2008. Perbaikan Kualitas Produk Industri Kecil Teripang. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia Vol.2, No.3, (Juni 2000), Hal. 52-55.*
- Zuniarto, A. Z, Anna. P, Ais H. 2017. Uji efektivitas ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) sebagai antiinflamasi dengan metode udem pada kaki tikus yang diinduksi karagenan. *Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi. Vol. 2 No 3*



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan Laboratorium



Pemotongan sampel
Holothuria scabra



Maserasi sampel
Holothuria scabra



Filtrat maserasi sampel
Holothuria scabra



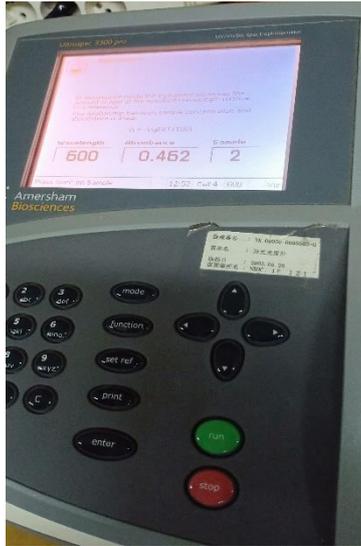
Evaporasi



Pemanasan media
Pada wise stir



Penuangan media



Uji OD Bakteri jerawat



Uji MIC



Mikrotiter plate bioassay



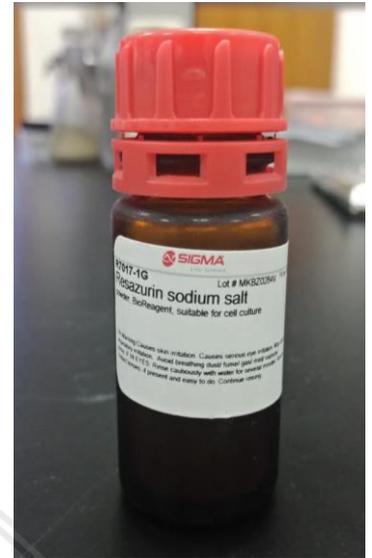
Lampiran 2. Dokumentasi Sampel



Holothuria scabra basah



Holothuria scabra kering



Indikator Resazurin



Propionibacterium acnes



Staphylococcus epidermidis



Staphylococcus aureus