

Aktivitas Antibakteri dan Toksisitas Teripang *Stichopus* sp.

Abdullah Rasyid

ABSTRACT: Sea cucumber *Stichopus* sp. is one of the marine life that has the potential to be developed as a source of antibacterial agents. Research on the antibacterial activity and toxicity test of sea cucumber *Stichopus* sp. aims to determine the antibacterial activity and the toxicity level of sea cucumber *Stichopus* sp. extract against *Artemia salina*. The method used for antibacterial activity test was the agar diffusion method, while toxicity tests using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The results showed that the extract of sea cucumber *Stichopus* sp. has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Vibrio eltor*. Extracts of sea cucumber *Stichopus* sp. are active against BSLT test marked with LC_{50} values of less than 1000 ppm.

Keywords: *Stichopus* sp., antibacterial activity, toxicity test

ABSTRAK: Teripang *Stichopus* sp. merupakan salah satu biota laut yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber bahan antibakteri. Penelitian uji aktivitas antibakteri dan toksisitas teripang *Stichopus* sp. bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan tingkat toksisitas ekstrak teripang *Stichopus* sp. terhadap *Artemia salina*. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar sedangkan uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Vibrio eltor*. Ekstrak teripang *Stichopus* sp. bersifat aktif terhadap uji BSLT yang ditandai dengan nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm.

Kata kunci : *Stichopus* sp., aktivitas antibakteri, uji toksisitas

Pusat Penelitian Oseanografi LIPI
Jl. Pasir Putih 1 Ancol Timur
Jakarta 14320

Korespondensi:

Abdullah Rasyid
Email: a_rasyid_qf@yahoo.co.id

PENDAHULUAN

Beberapa tahun terakhir, meningkatnya penggunaan antibiotik dalam mengatasi berbagai macam penyakit mulai memunculkan masalah baru. Salah satu di antaranya adalah resistensi terhadap antibiotik oleh bakteri penyebab infeksi. Hal ini telah mendorong berbagai upaya pencarian sumber antibakteri baru yang lebih efektif dan aman bagi kesehatan manusia.

Lautan yang menutupi 71% luas permukaan bumi memiliki keanekaragaman hayati yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber bahan obat dalam mengatasi berbagai macam penyakit, antara lain antibakteri (1). Teripang atau timun laut termasuk dalam filum Echinodermata merupakan salah satu biota laut yang telah lama dikonsumsi oleh masyarakat pesisir pantai Indonesia dan memiliki potensi sebagai bahan antibakteri alami. Meskipun memiliki bentuk yang kurang menarik, teripang tetap diminati untuk dikonsumsi. Hal ini dipengaruhi oleh peningkatan kesadaran akan pentingnya pemanfaatan berbagai potensi alamiah tanpa harus bergantung pada produk-produk olahan yang cenderung menimbulkan banyak masalah bagi kesehatan manusia. Teripang sangat memungkinkan untuk dikembangkan sebagai produk obat alamiah karena memiliki kandungan protein dan kolagen yang sangat tinggi. Selain itu kandungan terpenting dari teripang adalah mineral, asam amino, mukopolisakarida, glukosamin, omega-3, 6, dan 9, dan chondroitin sulfat (2).

Teripang termasuk komoditi ekspor Indonesia yang sampai saat ini pemanfaatannya sebagai bahan obat belum optimal. Hal ini disebabkan oleh masih kurangnya informasi ilmiah tentang potensi kandungan bioaktif pada teripang. Penelitian tentang potensi teripang *Stichopus* sp asal perairan Lampung Selatan sebagai sumber bahan obat antibakteri belum banyak dilakukan. Oleh karena itu tujuan penelitian ini dilakukan adalah untuk mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri, kandungan metabolit sekunder dan toksisitas teripang *Stichopus* sp. serta potensinya untuk

dikembangkan sebagai salah satu alternatif sumber bahan obat antibakteri di masa yang akan datang.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang *Stichopus* sp. yang diperoleh dari perairan Teluk Ratai, Lampung Selatan. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari metanol p.a, amonia, kloroform, asam sulfat p.a, pereaksi Meyer, pereaksi Liebermann-Burchard, asam klorida p.a, pure agar, ampisilin (10 µg), nutrient broth, yeast extract powder, peptone bacteriological dan ampisilin.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio eltor* dan *Escherichia coli*. Semua bakteri uji tersebut diperoleh dari Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Untuk uji toksisitas menggunakan *Artemia salina*.

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 500 gram sampel teripang yang telah dibersihkan dan dibuang isi perutnya dicacah halus, kemudian dimaserasi dengan 1000 mL metanol p.a. selama 3-5 hari, lalu disaring. Proses maserasi dan penyaringan dilakukan dengan beberapa kali pengulangan sampai diperoleh filtrat yang bening. Filtrat yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai mengental, lalu ditimbang.

Identifikasi Awal Kandungan Metabolit Sekunder

Alkaloid

Sebanyak 1 gram ekstrak metanol teripang ditambah dengan 3 tetes amonia 10% dan 1,5 mL kloroform, lalu dikocok. Lapisan kloroform diambil kemudian dilarutkan dalam 1 mL asam sulfat 2 N, kemudian dikocok. Setelah itu, ekstrak

ditambahkan dengan pereaksi Meyer. Terbentuknya endapan putih menandakan adanya senyawa alkaloid (3).

Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak sebanyak 1 gram ekstrak metanol teripang ditambah dengan 2 mL kloroform dalam tabung reaksi, kemudian diteteskan ke dalam plat tetes, dan dibiarkan sampai kering. Setelah itu, ditambahkan dengan 1 tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Terbentuknya warna merah menandakan adanya senyawa triterpenoid dan terbentuknya warna biru atau ungu menandakan adanya senyawa steroid (3).

Saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak teripang ditambah dengan 20 mL akuades, kemudian dipanaskan selama 5 menit. Larutan dituang ke dalam tabung reaksi dalam keadaan panas. Larutan diambil sebanyak 10 mL, kemudian dikocok kuat secara vertical selama 10 detik. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit dan tidak hilang pada saat ditambahkan dengan satu tetes HCl 2 N (3).

Uji Aktivitas Antibakteri

Untuk uji aktivitas antibakteri digunakan *S. aureus*, *B. subtilis*, *V. eltor* dan *E. coli* yang diperoleh dari Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi agar (4). Untuk mengetahui efektivitas bakteri uji digunakan perbandingan antibiotik yaitu ampisilin. Ampisilin digunakan dalam penelitian ini sebab ampisilin termasuk salah satu antibiotik dengan spektrum pemakaian yang luas, lebih murah dan mudah diperoleh.

Isolat bakteri uji yang telah dikultur dalam nutrisi broth dioleskan pada permukaan nutrisi agar menggunakan kapas lidi steril. Sebanyak 20 µL ekstrak diteteskan pada *paper disk* menggunakan pipet mikro, selanjutnya *paper disk* yang telah mengandung ekstrak diletakkan pada permukaan media inokulasi menggunakan pin-

set. Bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan penggaris. Semua proses di atas dilakukan secara aseptis.

Ketahanan bakteri terhadap ekstrak yang diuji dapat dilihat dari besarnya zona hambat yang dihasilkan. Sebagai standar pengukuran zona digunakan standar pengukuran menurut Mukherjee (5) yaitu :

1. Besar zona hambat dengan diameter lebih dari 12 mm menunjukkan bahwa sampel sangat berpotensi sebagai antibakteri.
2. Besar zona hambat dengan diameter antara 7-12 mm menunjukkan bahwa sampel berpotensi sebagai antibakteri.
3. Besar zona hambat dengan diameter kurang dari 7 mm menunjukkan bahwa sampel kurang berpotensi sebagai antibakteri.

Uji Toksisitas

Uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (6). Metode ini digunakan untuk mengetahui toksisitas sampel secara umum dengan menggunakan telur udang *Artemia salina*. Adapun prosedurnya sebagai berikut :

Pembuatan Konsentrasi Larutan

Sebanyak 0,5 gram masing-masing ekstrak metanol teripang diencerkan dengan metanol p.a. hingga 50 mL. Larutan yang diperoleh dari masing-masing jenis disebut larutan induk dengan nilai konsentrasi 10.000 ppm. Kemudian masing-masing larutan induk diencerkan menjadi beberapa konsentrasi akhir dalam botol vial yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 200 ppm, 100 ppm dan 10 ppm. Selanjutnya sebanyak 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi dimasukkan dalam botol vial dengan 2 kali pengulangan. Sebagai kontrol digunakan metanol dalam botol vial dengan volume yang sama sebesar 0,5 mL. Semua larutan ekstrak metanol dan kontrol dalam botol vial didiamkan mengering pada suhu ruang selama 24 jam.

Penetasan Telur *Artemia salina*

Wadah akuarium yang berisi air laut buatan

(38 gram NaCl dalam 1000 mL akuades) dibagi menjadi dua ruang yaitu ruang terang dan ruang gelap. Telur *Artemia salina* (0,2 g/1000 mL air laut) diletakkan dalam ruang gelap. Selama pene-tasan air laut diberi aerator sebagai sirkulasi udara dalam akuarium. Telur mulai menetas setelah 24 jam dan bergerak menuju ruang terang. Telur menetas dan bergerak aktif pada usia 36-48 jam. Umur *A. salina* 48 jam tersebut dikenal sebagai naupili *A. salina* yang digunakan pada uji BSLT.

Uji Brine Shrimp Letality Test

Sebanyak 10 naupili *A. salina* dipipet ke dalam masing-masing botol vial yang telah berisi ekstrak metanol dalam berbagai konsentrasi dan kontrol, lalu ditambahkan air laut hingga volume 5 mL. Selanjutnya botol vial ditutup dengan tutup karet dan dibiarkan selama 24 jam. Kematian pada setiap konsentrasi dicatat dan dibandingkan dengan kontrol, lalu dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Kematian larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi kandungan metabolit sekunder

Berdasarkan hasil analisis yang ditunjukkan pada Tabel 1 bahwa ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. tidak mengandung alkaloid. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya endapan putih setelah ditambahkan pereaksi Meyer. Demikian halnya triterpenoid juga tidak teridentifikasi

sebab tidak terbentuk warna merah setelah ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Pada uji identifikasi kandungan steroid menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu atau biru setelah ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Uji identifikasi kandungan saponin menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit dan tidak hilang pada saat ditambahkan dengan HCl 2 N.

Uji aktivitas antibakteri

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri yang ditunjukkan pada Tabel 2 bahwa ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*, *V. eltor* dan *B. subtilis*. Aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* sebesar 8 mm atau 27,59% terhadap pembanding ampisilin, aktivitas antibakteri terhadap *V. eltor* sebesar 8 mm atau 30,77% terhadap ampisilin sedangkan aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis* sebesar 52,38% terhadap ampisilin.

Berdasarkan standar pengukuran zona hambat antibakteri (5) bahwa ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. terhadap *S. aureus*, *V. eltor* dan *B. subtilis* termasuk dalam kategori berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antibakteri karena nilai zona hambatnya berada antara 7-12 mm. Nilai zona hambat yang diperoleh dalam penelitian ini kemungkinan akan lebih besar jika kandungan metabolit sekunder teripang *Stichopus* sp. yang diuji dalam bentuk sediaan murni.

Berbeda dengan ketiga bakteri uji lainnya, *Stichopus* sp. tidak menunjukkan aktivitas an-

Tabel 1. Hasil Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus ocellatus*

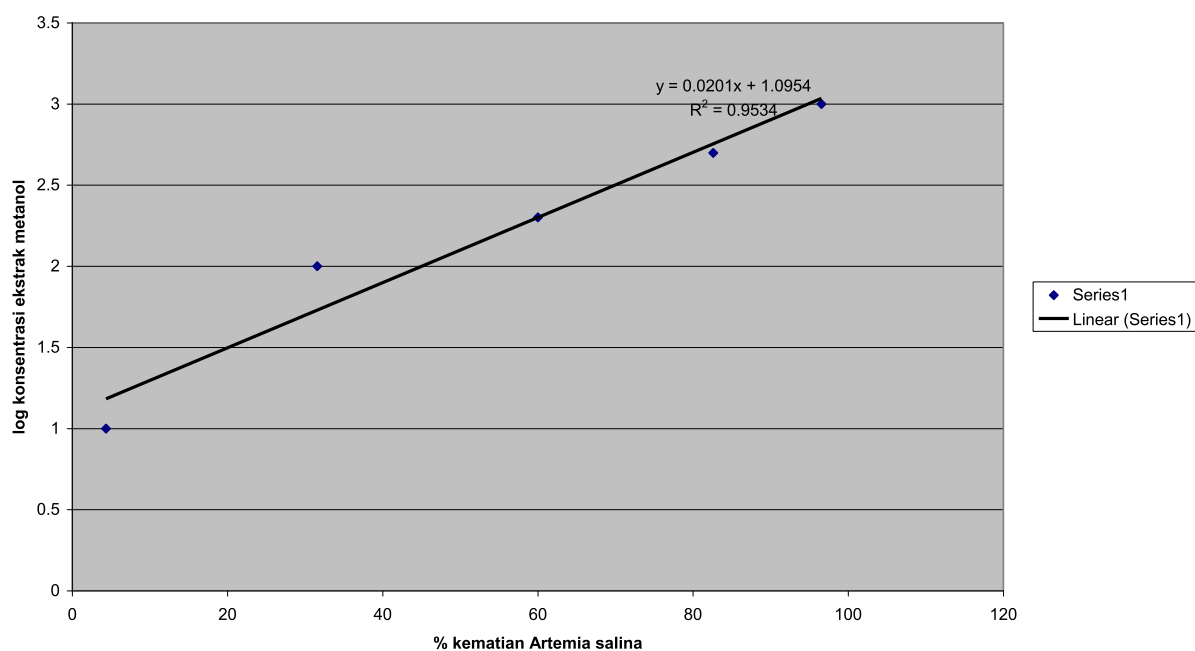
No	Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	Meyer	+	Tidak teridentifikasi
2	Steroid	Lieberman-Burchard	-	Teridentifikasi
3	Triterpenoid	Lieberman-Burchard	-	Tidak teridentifikasi
4	Saponin	HCl	+	Teridentifikasi

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol teripang *Stichopus ocellatus*

No	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (mm)	
		Ekstrak Metanol	Ampisilin
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	8	29
2.	<i>Vibrio eltor</i>	8	26
3.	<i>Bacillus subtilis</i>	11	21
4.	<i>Escherichia coli</i>	-	1

Tabel 3. Hasil uji toksisitas ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp.

Konsentrasi (ppm)	Angka Hidup	Angka Mati	Akumulasi Hidup	Akumulasi Mati	Mortalitas (%)	LC ₅₀ (ppm)
10	9	1	22	1	4,35	126,0085
100	5	5	13	6	31,58	
200	4	6	8	12	60	
500	3	7	4	19	82,21	
1000	1	9	1	28	96,55	



Gambar 1. Grafik hubungan antara persentase kematian *Artemia salina* dengan log konsentrasi ekstrak metanol

tibakteri terhadap *E.coli*. Besar nilai zona hambat *E. coli* terhadap ampisilin juga lebih rendah dibanding ketiga bakteri uji lainnya. Rendahnya nilai zona hambat bakteri *E. coli* tersebut menunjukkan bahwa kemungkinan bakteri *E. coli* sudah mulai resisten terhadap ampisilin.

Uji toksisitas

Berdasarkan hasil uji toksisitas menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menunjukkan bahwa ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. memiliki persentase kematian larva *A. salina* sebesar 4,35 – 96,55%. Pada konsen-

trasi 10 ppm persentase kematiannya sebesar 4,35%, 100 ppm persentase kematiannya sebesar 31,58%, 200 ppm persentase kematiannya sebesar 82,61% dan 100 ppm persentase kematiannya sebesar 96,55%.

Pada Gambar 1 menunjukkan hubungan antara persen mortalitas sebagai sumbu x terhadap log konsentrasi sebagai sumbu y sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,0201x + 1,0954$. Untuk menentukan nilai LC_{50} dilakukan dengan mensubstitusikan nilai 50 pada x sehingga diperoleh nilai y sebesar 126,0085 ppm. Hal ini berarti kematian larva *A. salina* akan mencapai 50% pada saat konsentrasi ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. mencapai 126,0085 ppm. Sifat toksik ini diketahui dari nilai LC_{50} yang lebih kecil dari 1000 ppm. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber bahan obat antibakteri di masa yang akan datang. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar da-

pat diketahui jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. yang memiliki aktivitas antibakteri dan toksik.

Berdasarkan data pada Tabel 3 terlihat bahwa mortalitas pada *A. salina* semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak metanol. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Harborne (7) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat antibakteri. Selain menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *B. subtilis* dan *V. eltor*, ekstrak metanol teripang *Stichopus* sp. juga menunjukkan aktivitas terhadap uji toksisitas dengan nilai LC_{50} sebesar 126,0085 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Haug T, Kjuul AK, Styrvold OB, Sandsdalen E, Olsen QM, Stensvag K. Antibacterial activity in stronglylo-centrotus droebachiensis (echinoidea), cucumaria frondosa (holothu-roidea) and asterias rubens (asteroidea). J Invertebrate Pathol 2002; 81: 94-102.
- Anonim. Teripang, imunomodulator hingga antitumor. (<http://www.republika.co.id/berita/gaya-hidup/info-sehat/09/09/29/78357-teripang-imunomodulator-hingga-antitumor>, Republika Online 2009 diakses tanggal 2 Januari 2013).
- Harborne JB. Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi IV. ITB Bandung 2006: 354.
- Lay BW. Analisis mikroba di laboratorium. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada 2006: 168.
- Mukherjee KL. Medical Laboratory Technology A Procedure Manual for Routine Diagnostic Test. New Delhi: Tata Mc Graw-Hill Publishing Company Limited 1998:1.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Medica 1982; 45:31-34.
- Harborne JB, editor. The flavonoids-Advances in research since 1986 Chapman & Hall, London, U.K. 1994: 676.