



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROTEIN LARUT AIR UMBI PORANG
(Amorphophallus muelleri Blume) **TERHADAP *Escherichia coli***
dan *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

Oleh

Putu Gita Maya Widyaswari Mahayasih
NIM 092210101034

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROTEIN LARUT AIR UMBI PORANG
(*Amorphophallus Muelleri* Blume) TERHADAP *Escherichia coli*
dan *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Putu Gita Maya Widyaswari Mahayashih
NIM 092210101034

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2013

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak I Nyoman Widiartha Mahayasa dan Mama Laksmayanti tercinta yang selalu mendoakan, mendukung baik spiritual maupun material, serta senantiasa memberi kasih sayang yang menyemangatkan.
2. Adik-adikku Made Anggara Wisesa Mahayasa dan Komang Astrini Widita Mahayasih yang juga selalu mendoakan dan memberikan semangat dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Dosen-dosen saya di Perguruan Tinggi yang telah dengan sabar menuntun dan memberikan ilmunya kepada saya.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Adalah Guru yang menyadarkan diriku
Bahwa Gusti tak terjelaskan lewat kata-kata
Bahwa Dialah penopang setiap jiwa Hyang Tunggal adaNya
Semoga aku tak pernah melupakannya *)

Ketidaktahuan adalah awal dari pengetahuan **)

Life isn't about finding yourself, it's about creating yourself

*) Khrisna, A. 2013. *Alpha dan Omega Spiritualitas*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama

**) Kahlil Gibran

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putu Gita Maya Widayaswari Mahayasih

NIM : 092210101034

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Uji Aktivitas Antibakteri Protein Larut Air Umbi Porang (Amorphophallus muelleri Blume) Terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 26 September 2013

Yang menyatakan,

Putu Gita Maya W. Mahayasih

NIM 092210101034

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PROTEIN LARUT AIR UMBI PORANG (*Amorphophallus muelleri* Blume) TERHADAP *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Oleh:
Putu Gita Maya Widyaswari Mahayasih
NIM 092210101034

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Tri Handoyo, SP.,M.Agr.,Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Moch. Amrun Hidayat S.Si.,Apt.,M.Farm

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Protein Larut Air Umbi Porang (*Amorphophallus Muelleri* Blume) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Kamis, 26 September 2013

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Tri Handoyo, SP.,M.Agr.,Ph.D

Moch. Amrun Hidayat S.Si.,Apt.,M.Farm

NIP 197112021998021001

NIP 197801262001121004

Tim Penguji

Penguji I,

Penguji II,

Endah Puspitasari, S. Farm., M. Sc., Apt.

Evi Umayah Ulfa, S.Si., Apt., M.Si.

NIP 198107232006042002

NIP 197807282005012001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Letyo Wulandari S.Si., Apt., Msi.

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

*Uji Aktivitas Antibakteri Protein Larut Air Umbi Porang (*Amorphophallus Muelleri* Blume) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*;* Putu Gita Maya Widyaswari Mahayashih, 092210101034; 2013; 56 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) merupakan tanaman yang hidup di daerah tropis dan tumbuh hampir di seluruh hutan di Indonesia. Umbi porang telah banyak dikembangkan di Indonesia, terutama dalam bidang industri. Kandungan glukomanan umbi porang dapat dimanfaatkan dalam teknologi polimer, maupun pengganti makanan pokok. Kebutuhan akan umbi porang juga terus meningkat. Pada tahun 2009, produksi porang di Jawa Timur mencapai 600-1.000 ton chip kering, sedangkan kebutuhan industri mencapai 3.400 ton chip kering. Pada tahun 2013, harga jual umbi porang basah mencapai kisaran Rp 2.800,- – Rp 3.000,- per kg. Dalam meningkatkan nilai jual umbi porang, perlu ditemukan manfaat lain umbi porang. Umbi porang juga memiliki kandungan berupa protein. Secara umum, protein telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri gram positif dan negatif, oleh karena itu, kandungan protein pada umbi porang diharapkan juga dapat memberikan aktivitas antibakteri. Protein umbi porang diekstraksi berdasarkan kelarutannya dalam air untuk mendapatkan protein larut air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri protein larut air umbi porang terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta untuk memperoleh profil protein umbi porang yang kemungkinan memiliki aktivitas antibakteri.

Pembuatan ekstrak protein larut air umbi porang, dilakukan dengan perendaman simplisia dalam pelarut air selama 4 jam pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20 °C untuk diambil

supernatannya. Supernatant kemudian dikeringkan pada suhu 4°C dengan menggunakan oven vakum sehingga didapatkan ekstrak kering. Ekstrak kering protein larut air umbi porang diresuspensi dengan Buffer Tris HCl pH 8 10x massa ekstrak kering.

Profil protein umbi porang dibuat dengan menggunakan SDS-PAGE dengan konsentrasi akrilamid 12,5 %. Pewarna yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan protein adalah dengan menggunakan CBB dan untuk mendeteksi keberadaan karbohidrat digunakan PAS.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *filter paper disk*. Cakram kertas berdiameter 6 mm diletakkan pada permukaan media yang telah ditanami bakteri, kemudian pada cakram ditetes 10 µl Buffer Tris-HCl pH 8 sebagai kontrol negatif dan protein dengan jumlah 0,0998 µg; 0,2001 µg; 0,3998 µg; 0,5001 µg; 1,001 µg; 1,4998 µg; dan 1,9998 µg. Cawan petri yang telah ditanami bakteri *S. aureus* dan *E. coli* serta terdapat disk kertas saring steril yang telah diimpregnasi dengan protein uji tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumuran.

Hasil analisis profil protein dengan SDS-PAGE 12,5% menggunakan pewarna CBB diperoleh dua pita protein dengan bobot molekul rendah yaitu antara 19 kDa dan 17 kDa. Sedangkan, pewarnaan dengan menggunakan PAS untuk mengetahui kandungan karbohirat-protein tidak memberikan pita dengan positif merah muda pada berat molekul yang sama, namun memberikan hasil positif pada BM ≥ 250 kDa. Artinya, pada berat molekul 17 kDa dan 19 kDa tidak terdapat ikatan antara protein dan karbohidrat. Hal ini dapat dimungkinkan karena terputusnya ikatan antara protein dan karbohidrat oleh pengaruh SDS.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri oleh ekstrak protein larut air umbi porang terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pada bakteri *S. aureus*, hambatan pertumbuhan bakteri telah ditunjukkan mulai jumlah protein 0,0998 µg yaitu sebesar 11,19 mm. Besarnya zona hambat

pertumbuhan bakteri terus meningkat hingga jumlah protein 1,9998 μg . Pada bakteri *E.coli*, protein larut air umbi porang menunjukkan aktivitas penghambatan pada jumlah protein 0,3998 μg dengan besar hambatan 1,85 mm dan terus meningkat hingga jumlah protein 1,9998 μg .

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak protein larut air umbi porang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Kemungkinan berat molekul protein yang memiliki aktivitas antibakteri adalah antara 19 kDa dan 17 kDa. Di samping itu, dari hasil pewarnaan dengan PAS dapat diketahui bahwa pada ekstrak protein larut air umbi porang juga terdapat karbohidrat.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala hikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Uji Aktivitas Antibakteri Protein Larut Air Umbi Porang (Amorphophallus Muelleri Blume) terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dukungan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa untuk karunia yang diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Bapak Tri Handoyo, SP.,M.Agr.,Ph.D., selaku DPU dan bapak Moch. Amrun Hidayat S.Si.,Apt.,M.Farm selaku DPA yang telah memberikan dukungan dan semangat untuk penyelesaian skripsi ini;
4. Ibu Endah Puspitasari, S. Farm., M. Sc., Apt. dan Ibu Evi Umayah Ulfa, S.Si., Apt., M.Si, selaku dosen pengaji yang banyak memberikan saran dan kritik yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Drs. Wiratmo., M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik atas masukan dan bimbingannya beserta seluruh bapak dan ibu dosen yang telah meberikan bekal ilmu selama menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Bapak Komang, Mama Yanti, serta adik-adikku, Angga dan Astri, di Kupang yang telah banyak berkorban dan memberikan dukungan, semangat, doa, dan kasih sayang tak henti-hentinya selama ini yang menjadi semangat utamaku menyelesaikan skripsi ini.

7. Eyang dan tante Nita di Jember; Pekak, Ninik, om Gede, tante Nita, tante Kadek, om Kadek, tante Ketut, om Dedek, om Putu, tante Suri, om Denik, tante Titis dan seluruh keluarga besar di pulau Bali atas doa dan semangatnya;
8. Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah banyak membantuku;
9. Rekan-rekan kerja di laboratorium genetika dan pemuliaan tanaman Fakultas Pertanian, Kiki, Meyda, atas bantuan dan semangatnya;
10. Sahabat-sahabatku Inka, Rizka, Bino, Hery, Wahyuni, Pram, dan seluruh keluarga besar *The Niners* untuk 4 tahun yang penuh cerita;
11. Teman-teman KKT Gelombang I 2013 Kecamatan Kencong untuk 45 hari yang bermakna;
12. Keluarga kecilku di Kos Cinta untuk hari-hari yang penuh kehebohan, doa, serta semangatnya;
13. Saudara-saudaraku mahasiswa Hindu di Jember untuk motivasi dan rasa kekeluargaananya;
14. Rekan-rekan LPMF Lingkar 2010-2012 untuk cerita, pengalaman, pelajaran, dan rasa kekeluargaan ini;
15. Keluarga BEM Fakultas Farmasi 2010-2012 atas pelajaran serta pengalamannya;
16. Aru M. W. untuk bantuan, bimbingan, kesabaran, dan pengertiannya sebagai kakak, teman, juga sahabat.

Penulis menerima saran dan kritik yang membangun dari semua pihak karena penulis menyadari skripsi ini tidaklah sempurna. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, September 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	<i>Halaman</i>
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Mengenai Porang	5
2.1.2 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi Tanaman	6
2.1.3 Kandungan Senyawa Umbi Porang	6
2.2 Tinjauan Tentang Protein.....	8
2.2.1 Penggolongan Protein	8
2.2.2 Pemurnian Protein.....	9

2.3	Tinjauan tentang Bakteri	11
2.3.1	<i>Escherichia coli</i>	13
2.3.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.4	Tinjauan Antibakteri	15
2.4.1	Protein Antibakteri	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	20
3.1	Jenis Penelitian.....	20
3.2	Rancangan Penelitian	20
3.3	Sampel.....	21
3.4	Pengulangan	21
3.5	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	22
3.5.1	Variabel Bebas	22
3.5.2	Variabel Terikat	22
3.5.3	Variabel Terkendali.....	22
3.5.4	Definisi Operasional.....	23
3.6	Bahan dan Instrumen Penelitian.....	23
3.6.1	Bahan penelitian.....	23
3.6.2	Instrumen Penelitian.....	23
3.7	Lokasi dan Waktu Penelitian	24
3.7.1	Lokasi	24
3.7.2	Waktu Penelitian	24
3.8	Prosedur Penelitian.....	24
3.8.1	Proses Pembuatan Serbuk Simplicia Umbi Porang.....	24
3.8.2	Ekstraksi Protein Antibakteri Umbi Porang.....	24
3.8.3	Penentuan Kandungan Protein Terlarut	25
3.8.4	Sterilisasi Alat dan Bahan	25
3.8.5	Pembuatan Media Mueller Hinton	25
3.8.6	Pembuatan Suspensi bakteri <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	25

3.8.7	Pembuatan Kontrol.....	25
3.9	Pembuatan Profil SDS-PAGE Protein Antibakteri Umbi Porang	26
3.9.1	Preparasi sampel.....	26
3.9.2	Pewarnaan dengan <i>Coomasie Brilliant Blue</i>	26
3.9.3	<i>Periodic Acid Staining</i>	27
3.9.4	Penentuan Berat Molekul Protein Antibakteri Umbi Porang	27
3.10	Uji Aktivitas Antibakteri.....	27
3.11	Tahap Pengamatan	28
3.12	Skema Kerja Penelitian	29
3.12.1	Skema Ekstraksi Protein Larut Air Umbi Porang	29
3.12.2	Skema Uji Aktivitas Antibakteri.....	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31	
4.1	Gambaran Umum Penelitian.....	31
4.1.1	Pembuatan Ekstrak Protein Larut Air Umbi Porang.....	31
4.1.2	Persentase Susut Pengeringan	31
4.2	Profil Protein Larut Air Umbi Porang.....	31
4.3	Uji Aktivitas Antibakteri Protein Larut Air Umbi Porang Terhadap bakteri <i>E. coli</i>	32
4.4	Uji Aktivitas Antibakteri Protein Larut Air Umbi Porang Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	33
4.5	Pembahasan.....	36
4.5.1	Profil Protein Larut Air Umbi Porang.....	36
4.5.2	Uji Aktivitas Antibakteri Protein Larut Air umbi Porang....	37
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41	
5.1	Kesimpulan	41
5.2	Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42	
LAMPIRAN	48	

DAFTAR TABEL

	<i>Halaman</i>
Tabel 2.1 Kandungan umbi porang	7
Tabel 2.2 Perbedaan sifat bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif.....	12
Tabel 4.1 Persentase susut pengeringan ekstrak air umbi porang.....	31
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran Zona Bening Protein Larut Air Umbi Porang terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>E. coli</i>	33
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Zona Bening Protein larut Air Umbi Porang Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>S. aureus</i>	34

DAFTAR GAMBAR

	<i>Halaman</i>
Gambar 2.1 (a) Umbi porang (<i>Amorphophallus muelleri</i>); (b) Tanaman porang (<i>Amorphophallus muelleri</i>)	5
Gambar 2.2 Struktur umum asam amino.....	8
Gambar 2.3 Diagram skematik dinding sel bakteri gram positif dan gram Negatif	12
Gambar 2.4 Model mekanisme kerja protein antibakteri dalam menghambat atau membunuh bakteri.....	19
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian penentuan aktivitas antimikroba..	20
Gambar 3.2 Pengamatan uji aktivitas antibakteri dengan metode <i>filter paper disk</i>	28
Gambar 3.3 Skema ekstraksi protein larut air umbi porang	29
Gambar 3.4 Skema uji aktivitas antibakteri	30
Gambar 4.1 Profil protein umbi porang	32
Gambar 4.2 Hasil uji aktivitas antibakteri protein antibakteri umbi porang terhadap bakteri <i>E. coli</i>	34
Gambar 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri protein antibakteri umbi porang terhadap bakteri <i>S. aureus</i>	35
Gambar 4.4 Grafik perbedaan zona hambatan protein larut air umbi porang berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> dan <i>E.coli</i>	36

DAFTAR LAMPIRAN

	<i>Halaman</i>
A. Pembuatan Larutan Uji.....	48
B. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	50
C. Kurva Standar Pengukuran Kadar Protein dengan Metode Bradford	52
D. Berbagai Macam Komposisi Bahan yang Digunakan.....	53
E. Dokumentasi Penelitian	56