

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI SENYAWA FENOLIK
METABOLIT EKSTRASELULER BAKTERI ASOSIASI
LOBSTER *Panulirus versicolor***

SKRIPSI

**AKTRIASARI FITRIA MAHARANI
26040120130112**



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2024**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI SENYAWA FENOLIK
METABOLIT EKSTRASELULER BAKTERI ASOSIASI
LOBSTER *Panulirus versicolor***

**AKTRIASARI FITRIA MAHARANI
26040120130112**

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Derajat Sarjana S1 pada Departemen Ilmu Kelautan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Aktivitas Antioksidan dan Uji Senyawa Fenolik
Metabolit Ekstraseluler Bakteri Asosiasi Lobster
Panulirus versicolor
Nama Mahasiswa : Aktriasari Fitria Maharani
Nomor Induk Mahasiswa : 26040120130112
Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan

Mengesahkan,

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota



Prof. Agus Trianto, S.T., M.Sc., Ph.D.

NIP. 1969032319955121001



Dr. Ir. Sri Sedjati, M.Si.

NIP. 196904101994032004

Dekan,

Ketua

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Program Studi Ilmu Kelautan

Universitas Diponegoro

Departemen Ilmu Kelautan



Prof. Ir. Tri Wiarni Agustini, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196508211990012001



Dr. Ir. Chrisna Adhi Suryono, M.Phil.

NIP. 196406051991031004

HALAMAN PENGESAHAN

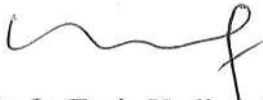
Judul Skripsi : Aktivitas Antioksidan dan Uji Senyawa Fenolik
Metabolit Ekstraseluler Bakteri Asosiasi Lobster
Panulirus versicolor
Nama Mahasiswa : Aktriasari Fitria Maharani
Nomor Induk Mahasiswa : 26040120130112
Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan

Skripsi ini telah disidangkan di hadapan Tim Penguji pada:

Hari/Tanggal : Jumat/ 31 Mei 2024
Tempat : Ruang E.103, FPIK Universitas Diponegoro

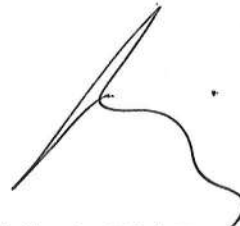
Penguji Utama

Penguji Anggota



Dr. Ir. Ervia Yudiati, M.Sc

NIP. 196401311989022001



Prof. Dr. Ir. Diah Permata Wijayanti, M.Sc

NIP. 196901161993032001

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota



Prof. Agus Trianto, S.T., M.Sc., Ph.D.

NIP. 1969032319955121001



Dr. Ir. Sri Sedjati, M.Si.

NIP. 196904101994032004

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini Saya, Aktriasari Fitria Maharani, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul Aktivitas Antioksidan dan Uji Senyawa Fenolik Metabolit Ekstraseluler Bakteri Asosiasi Lobster *Panulirus versicolor* adalah bagian dari riset yang diketuai oleh Prof. Dr. Ir. Ambariyanto, M.Sc. belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam karya ilmiah/skripsi ini yang berasal dari karya orang lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber Penulis secara benar dan semua isi dari karya ilmiah/skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab Penulis.

Semarang, 2 Mei 2024

Penulis,



Aktriasari Fitria Maharani

NIM. 26040120130112

ABSTRAK

(Aktriasari Fitria Maharani. 26040120130112. Aktivitas Antioksidan dan Uji Senyawa Fenolik Metabolit Ekstraseluler Bakteri Asosiasi Lobster *Panulirus versicolor*. Agus Trianto & Sri Sedjati).

Lobster merupakan salah satu biota laut yang banyak dimanfaatkan di berbagai bidang seperti pangan, farmasi, *nutraceuticals*, dan pengolahan air. Saat ini bakteri asosiasi biota laut banyak dimanfaatkan sebagai target eksplorasi bahan aktif. Hal tersebut didasari oleh kemampuan bakteri asosiasi untuk menghasilkan senyawa metabolit yang mirip dengan inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa fenolik yang dihasilkan oleh metabolit ekstraseluler bakteri asosiasi *Panulirus versicolor* yang didapatkan dari bagian karapas (LB.2.K) dan saluran pencernaan (LB.2.P.A). Isolat difermentasikan dalam media *Zobell Marine Broth* selama 72 jam untuk optimalisasi sekresi metabolit ekstraseluler. Hasil fermentasi disentrifugasi 4000 rpm selama 12 menit untuk dipisahkan supernatan dan biomassa. Supernatan diekstraksi dengan etil asetat dan n-butanol kemudian diuji aktivitas antioksidan secara kualitatif dan kuantitatif dengan metode DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazyle) serta uji fenolik secara kualitatif melalui metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan fase gerak kloroform:n-heksana (8:2) dan FeCl₃ sebagai penampak noda. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa metabolit ekstraseluler dari kedua isolat memiliki aktivitas antioksidan melalui perubahan warna ungu menjadi kekuningan. Hasil uji kuantitatif dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125 dan 62,5 ppm menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat LB.2.K dan LB.2.PA serta ekstrak n-butanol LB.2.K dan LB.2.PA memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 578,68 ppm, 270,21 ppm, 89,96 ppm dan 139,94 ppm dengan vitamin C murni sebagai pembanding dengan konsentrasi 20, 10, 5, 2,5 dan 1,25 ppm memiliki IC₅₀ sebesar 1,67 ppm. Uji senyawa fenolik menunjukkan bahwa ekstrak metabolit ekstraseluler bakteri asosiasi lobster mengandung senyawa fenolik yang diduga berkontribusi dalam aktivitas antioksidan

Kata kunci: *Panulirus versicolor*, antioksidan, senyawa fenolik, DPPH, KLT.

ABSTRACT

(Aktriasari Fitria Maharani. 26040120130112. *Antioxidant Activity and Phenolic Compound Assay of Extracellular Metabolites of Association Bacteria Lobster Panulirus versicolor*. Agus Trianto & Sri Sedjati).

Lobster is one of the marine biota that is widely utilized in various fields such as food, pharmaceuticals, nutraceuticals, and water treatment. Currently, bacteria associated with marine life are widely used as targets for exploration of active ingredients. This is based on the ability of associated bacteria to produce metabolite compounds similar to their host. This study aims to explore the potential antioxidant activity and content of phenolic compounds produced by extracellular metabolites of *Panulirus versicolor* associated bacteria obtained from the lobster's carapace (LB.2.K) and lobster's digestive tract (LB.2.P.A). The isolates were fermented in Zobell Marne Broth medium for 72 hours to optimize the secretion of extracellular metabolites. The fermentation was centrifuged at 4000 rpm for 12 min to separate supernatant and biomass. The supernatant was extracted with ethyl acetate and n-butanol and then tested for antioxidant activity qualitatively and quantitatively by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle) method and phenolic test qualitatively by KLT (Thin Layer Chromatography) method with chloroform:n-hexane (8:2) as mobile phase and FeCl_3 as reagent. Qualitative test results showed that extracellular metabolites from both isolates have antioxidant activity through purple to yellowish color changes. Quantitative test results with concentrations of 1000, 500, 250, 125 and 62.5 showed that the ethyl acetate extracts of LB.2.K and LB.2.PA as well as the n-butanol extracts of LB.2.K and LB.2.PA had IC_{50} values of 578.68 ppm, 270.21 ppm, 89.96 ppm and 139.94 ppm respectively with pure vitamin C as a comparison with concentrations of 20, 10, 5, 2.5 and 1.25 ppm had an IC_{50} of 1.67 ppm. The phenolic compound test showed that the extract of extracellular metabolites of lobster-associated bacteria contains phenolic compounds that are thought to contribute to antioxidant activity.

Keywords: *Panulirus versicolor*, antioxidant, phenolic compound, DPPH, TLC.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur Penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antioksidan dan Uji Senyawa Fenolik Metabolit Ekstraseluler Bakteri Asosiasi Lobster *Panulirus versicolor*” dengan tepat waktu

Melalui kesempatan ini Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada

1. Prof. Dr. Ir. Ambariyanto, M.Sc. selaku penyelenggara proyek yang telah membimbing dan memfasilitasi proses penelitian;
2. Prof. Agus Trianto, S.T., M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing pertama dan Dr. Ir. Sri Sedjati, M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan serta ilmu pengetahuan selama proses penelitian sampai kepenulisan skripsi;
3. Dr. Ir. Ervia Yudiati, M.Sc selaku dosen penguji pertama dan Prof. Dr. Ir. Diah Permata Wijayanti, M.Sc selaku dosen penguji kedua yang telah memberikan saran dan bimbingannya untuk kesempurnaan penyusunan skripsi;
4. Kak Refa dan Kak Berliana selaku asisten laboratorium *Natural Product* yang telah membimbing selama proses penelitian

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga Penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari pembaca agar lebih baik lagi. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi para pembacanya.

Semarang, 2 Mei 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bioekologi <i>Panulirus versicolor</i>	5
2.2 Bakteri Asosiasi Lobster	6
2.4 Metabolit Ekstraseluler Bakteri	8
2.5 Radikal Bebas	10
2.5.1 Sumber Radikal Bebas	10
2.5.2 DPPH sebagai Radikal Bebas	11
2.6 Senyawa Fenolik sebagai Antioksidan	12
3. MATERI DAN METODE	14
3.1 Materi Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.2.1 Alat	14
3.2.2 Bahan	15
3.3 Metode Penelitian	16
3.4 Prosedur Penelitian	16

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	16
3.4.2 Peremajaan Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i> pada <i>Zobell Marine Agar</i> ..	16
3.4.3 Peremajaan Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i> pada <i>Zobell Marine Broth</i> .	17
3.4.4 Produksi Metabolit Ekstraseluler.....	17
3.4.5 Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Metabolit Ekstraseluler	17
3.4.6 Ekstraksi Metabolit Ekstraseluler	18
3.4.7 Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metabolit Ekstraseluler	18
3.4.8 Uji Kualitatif Senyawa Fenolik Ekstrak Metabolit Ekstraseluler	19
3.4.9 Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i>	20
3.4.10 Identifikasi Gram Sel Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i>	20
3.5 Diagram Alir Penelitian	21
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil	22
4.1.1 Aktivitas Antioksidan Metabolit Ekstraseluler.....	22
4.1.2 Karakteristik Ekstrak Metabolit Ekstraseluler.....	22
4.1.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metabolit Ekstraseluler.....	23
4.1.4 Uji Senyawa Fenolik.....	27
4.1.5 Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i>	28
4.1.6 Identifikasi Gram Sel Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i>	29
4.2 Pembahasan.....	30
4.2.1 Aktivitas Antioksidan Metabolit Ekstraseluler.....	30
4.2.2 Karakteristik Ekstrak Metabolit Ekstraseluler.....	31
4.2.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metabolit Ekstraseluler.....	32
4.2.3 Uji Senyawa Fenolik	35
4.2.4 Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i>	37
4.2.5 Identifikasi Gram Sel Bakteri Asosiasi <i>P. versicolor</i>	38
5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	48
RIWAYAT HIDUP	61

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Alat Penelitian	14
Tabel 3.2 Bahan Penelitian.....	15
Tabel 4.1 Karakteristik Ekstrak.....	23
Tabel 4.2 Nilai IC ₅₀ Ekstrak	27
Tabel 4.3 Identifikasi Morfologi Koloni	28
Tabel 4.4 Identifikasi Gram Sel	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Lobster <i>Panulirus Versicolor</i>	5
Gambar 2.2 Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri	8
Gambar 2.3 Struktur Kimia DPPH	12
Gambar 2.4 Reaksi Kimia DPPH Dengan Senyawa Fenolik	13
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian	21
Gambar 4.1 Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan	22
Gambar 4.2 Log Konsentrasi dan Probit Persen Inhibisi Eksrak Etil Asetat	24
Gambar 4.3 Log Konsentrasi dan Probit Persen Inhibisi Ekstrak N-Butanol	25
Gambar 4.4 Log Konsentrasi dan Probit Persen Inhibisi Vitamin C	26
Gambar 4.5 Hasil Pengujian Klt	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Pemekatan Fraksi Etil Asetat Dan N-Butanol.....	49
Lampiran 2 Analisis IC ₅₀	50
Lampiran 3 Tabel Finney Transformasi Nilai Persen Ke Probit.....	51
Lampiran 4 Perhitungan Uji Antioksidan Metode DPPH.....	52
Lampiran 5 Hasil Peredaman DPPH.....	56
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian	59