

**UJI BIOAKTIVITAS EKSTRAK *Padina australis* DARI PESISIR
PANTAI MOLAS SULAWESI UTARA TERHADAP BAKTERI
*Staphylococcus epidermidis***

**(Bioactivity Test of *Padina australis* Extract Obtained from Molas Coast of North
Sulawesi, Against Bacterium *Staphylococcus epidermidis*)**

Nur Alfian Muhammad Zen^{1*}, Edwin de Queljoe¹, Marina Singkoh¹

1. Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado

*e-mail : alfianmzen30@gmail.com

The aim of this research was to know the bioactivity of *Padina australis* extract obtained from Molas Coast North Sulawesi against bacterium *Staphylococcus epidermidis*. The method for the test was MIC Test (Minimum Inhibitory Concentration) and MBC Test (Minimum Bactericidal Concentration). The testing was analyzed with complete randomized design with five treatments namely concentration of 30%, 60%, 90%, negative control (CMC 1%) and positive control (cotrimoksazole). Determination of MIC value with turbidity analysis was using spectrophotometer (λ 630 nm) while the value of MBC was with pour plate method. Data of MBC test was analyzed with one way ANOVA and Tukey Test. MIC of *P. australis* extract on *S. epidermidis* is on concentration of 90%. The results of statistical analysis one way ANOVA, of the MBC test showed a significant difference between the extract with colonies total grown on NA media. Tukey test showed that the extract of *P. australis* performed best bioactivity against *S. epidermidis* was on concentration of 90%

Keywords : *Padina australis*, *Staphylococcus epidermidis*, bioactivity

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak *P. australis* terhadap bakteri *S. epidermidis*. Metode yang digunakan dalam uji bioaktivitas adalah uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Pengujian bioaktivitas dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu seri konsentrasi ekstrak 30%, 60%, 90%, kontrol negatif (CMC 1%) dan kontrol positif (cotrimoksazole). Penentuan nilai MIC dengan analisis kekeruhan menggunakan spektrofotometer (λ 630 nm) sedangkan nilai MBC dengan metode *pour plate*. Data hasil uji MBC dianalisis menggunakan ANOVA *one way* kemudian dilanjutkan dengan Uji Tukey. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai MIC (Kadar Hambat Minimal) adalah konsentrasi 90%. Hasil analisa statistika ANOVA *one way* data uji MBC menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak dengan total koloni yang tumbuh pada media NA. Uji Tukey menunjukkan bahwa ekstrak *P. australis* yang menunjukkan bioaktivitas terbaik terhadap *S. epidermidis* adalah konsentrasi 90% dengan selisih 631 koloni dengan konsentrasi 60% dan 658 koloni dengan konsentrasi 30%. Total koloni yang tumbuh pada media NA dengan perlakuan konsentrasi ekstrak 90% adalah 31 koloni. Ekstrak etanol *Padina australis* memiliki bioaktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis*. Nilai MIC ekstrak *P. australis* terhadap bakteri *S. epidermidis* adalah konsentrasi 90%. Nilai MBC tidak diketahui dikarenakan pada pengujian lanjut (MBC) konsentrasi yang menunjukkan nilai MIC merupakan konsentrasi tertinggi yaitu 90% masih ditemukan koloni bakteri yang tumbuh pada media NA.

Kata Kunci : *Padina australis*, *Staphylococcus epidermidis*, bioaktivitas

PENDAHULUAN

Kelautan yang meliputi hampir 70% dari seluruh luas permukaan bumi khususnya Indonesia yang dikenal dunia sebagai negara bahari merepresentasikan sumber terbaik bagi kekayaan bahan alam planet ini. Berbagai literatur telah mengemukakan bahwa banyak hasil bahan alam kelautan yang mempunyai bioaktivitas antitumor (Kamiya *et al.*, 1987), antiviral (Rinehart *et al.*, 1993), komponen sitotoksik (Schmitz *et al.*, 1993), dan lain-lain. Studi-studi tersebut telah memperlihatkan bahwa lingkungan kelautan merupakan sumber yang kaya akan komponen bioaktif, diantaranya banyak memiliki struktur kimiawi yang tidak ditemukan di lingkungan terestrial (Jadulco, 2002).

Alga (*seaweed*) adalah bagian terbesar dari Kingdom Plantae yang hidup di laut, dimana secara morfologi dapat dikelompokkan ke dalam golongan tumbuhan (Thallophyta) karena tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang, dan daun (Aslan, 1998). Riset mengenai alga sebagai bahan sediaan farmasetika telah dilakukan pada beberapa tempat di wilayah Sulawesi Utara diantaranya di perairan pesisir Pulau Nain, perairan Likupang, Tongkaina, dan Malalayang (Singkoh, 2008). Namun beberapa wilayah seperti pesisir pantai Molas, Kota Manado belum banyak diteliti.

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus epidermidis*. Saat ini sudah banyak bakteri penyebab penyakit (patogen) pada manusia yang menunjukkan resistensi obat karena penggunaan antibiotik yang tidak sesuai (Sartoratto *et al.*, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak *Padina australis* terhadap bakteri

S. epidermidis. Bioaktivitas dari ekstrak *P. australis* diketahui berdasarkan hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan uji MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus hingga Oktober 2015. Pengambilan sampel di Pesisir Pantai Molas Kecamatan Bunaken Kota Manado Sulawesi Utara. Uji bioaktivitas dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah MERCK® *Nutrient Agar* (NA), MERCK® *Nutrient Broth*, etanol 95%, CMC, sampel segar *P. australis* Hauck, aluminium foil, kertas *whatman* No. 1, kain kasa dan kapas steril, CMC, akuades steril, NaCl 0,9%, H₂SO₄ 1%, dan BaCl 1%.

Sampel segar *P. australis* Hauck yang berasal dari pesisir Pantai Molas Kecamatan Bunaken Kota Manado yang telah diambil dibersihkan dari substratnya dan dicuci hingga bersih. Sampel dipotong-potong kecil kemudian digerus. Sampel yang telah digerus selanjutnya direndam dalam pelarut etanol 95% dengan perbandingan pelarut dan sampel yaitu 2:1 selama 24 jam kemudian maserat disaring menggunakan kertas *whatman* no. 1 sehingga diperoleh filtrat pertama. Filtrat pertama disimpan di dalam botol sedangkan ampas sampel direndam kembali dengan pelarut yang sama dengan perbandingan pelarut dan sampel yaitu 2:1. Hal yang sama dilakukan pada maserasi ketiga selama 24 jam. Hasil maserasi yang telah disaring kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45°C agar terbentuk ekstrak kental. Hasil ekstrak kental ini merupakan ekstrak dengan konsentrasi 100% dan untuk mencegah kehilangan senyawa-senyawa yang terkandung dalam

ekstrak, ekstrak harus disimpan pada suhu 18°C.

Uji bioaktivitas ekstrak etanol *P. australis* dilakukan dengan metode pengukuran turbiditas (kekeruhan) menggunakan analisis spektrofotometer. Untuk menentukan nilai MIC dan nilai MBC dengan metode *pour plate*. Suspensi bakteri *S. epidermidis* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUD. Prof. Dr. Kandou Kota Manado dengan kepadatan 10^6 CFU/mL. Pembuatan suspensi tersebut distandarisasi dengan menggunakan metode *McFarland* 0.5 yang terdiri dari 9,95 mL larutan H_2SO_4 1% dan 0,05 mL larutan BaCl 1,175% yaitu setara dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/mL (Sutton, 2011).

Satu tabung berisi larutan standar *McFarland* 0.5 terlebih dahulu disiapkan. Suspensi bakteri *S. epidermidis* dibuat dengan cara mengambil 4-10 ose bakteri dari media NA yang telah diinkubasi selama 24 jam dimasukkan ke dalam tabung yang berisi NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan. Suspensi bakteri tersebut disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar *McFarland* 0.5. Suspensi yang telah dibuat kemudian diencerkan dengan cara memipet 0,1 mL suspensi bakteri (10^8 CFU/mL) dimasukkan ke dalam tabung steril dan ditambahkan 9,9 mL larutan NaCl 0,9% sehingga diperoleh kepadatan bakteri uji yakni 10^6 CFU/mL (Oonmetta-aree *et al.*, 2005).

Uji MIC dilakukan mengacu pada penelitian Munfaati *et al.*, (2014). Seri konsentrasi ekstrak *P. australis* yang telah diencerkan dengan pelarut CMC 1% disiapkan terlebih dahulu. Tiga dari lima tabung reaksi steril yang berisi 8,8 mL *Nutrient Broth* steril masing-masing ditambahkan 1 mL ekstrak *P. australis* Hauck dan 200 μ L kultur bakteri. Pada perlakuan kontrol positif tabung yang berisi 8,8 mL *Nutrient Broth* ditambahkan 1 mL antibiotik cotrimoksazole dan 200 μ L kultur bakteri. Pada perlakuan kontrol negatif tabung yang berisi 8,8 mL ditambahkan

1 mL CMC 1% dan 200 μ L kultur bakteri. Semua tabung divortex agar homogen kemudian diambil 2 mL untuk diukur nilai *Optical Density* (OD) bakteri dengan menggunakan spektrofotometer (λ 630 nm).

Kelima tabung di atas diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Nilai OD pasca inkubasi diukur kembali dengan mengambil 2 mL untuk diukur nilai OD dengan menggunakan spektrofotometer (λ 630 nm). Jika selisih nilai OD dengan konsentrasi terendah bernilai negatif, maka ditetapkan sebagai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

Uji MBC menggunakan metode *pour plate* yang mengacu pada penelitian Munfaati *et al.*, (2014) yaitu dengan cara mencairkan *Nutrient Agar* terlebih dahulu dan menyiapkan cawan petri steril sebanyak 5 buah. Ekstrak *P. australis* dari seri konsentrasi dan juga kontrol dimasukkan ke dalam tabung yang berisi *Nutrient Broth*. Tabung tersebut ditambahkan suspensi bakteri kemudian dihomogenkan dan selanjutnya dituang ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga media memadat. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil inkubasi dapat dilihat dengan ada tidaknya pertumbuhan koloni pada *Nutrient Agar*. Total koloni bakteri dihitung menggunakan *Colony Counter*. Data hasil penelitian uji MBC (kuantitatif) dianalisis dengan uji ANOVA *one way* kemudian apabila terjadi perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan Uji *Tukey*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

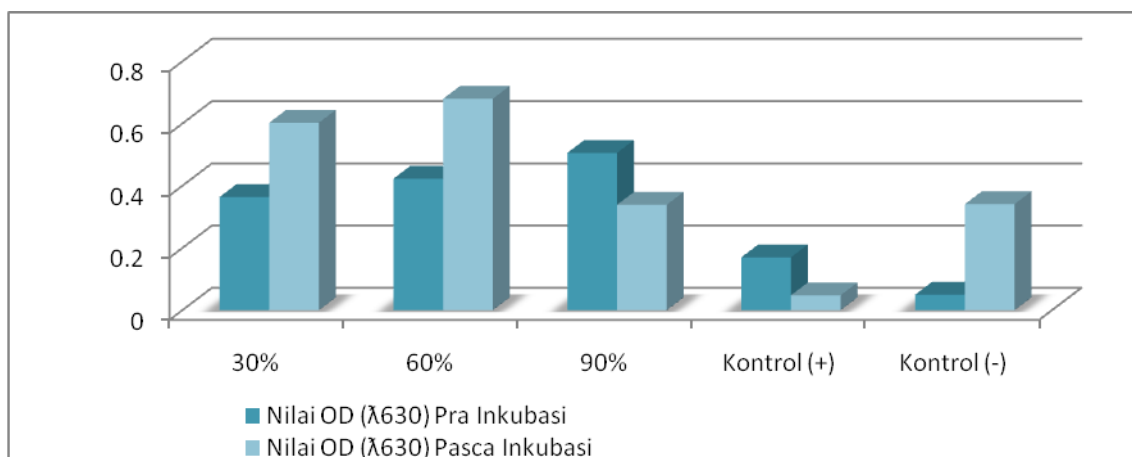
Pengujian bioaktivitas pada bakteri *S. epidermidis* dilakukan dengan menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) atau Kadar Hambat Minimal (KHM) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) atau Kadar Bunuh Minimal (KBM). Hasil pengukuran nilai OD (*optical density*) pada uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) menggunakan

Tabel 1. Hasil Pengukuran Nilai OD pada uji MIC ekstrak *Padina australis* Hauck terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Perlakuan	Nilai OD		Δ OD
	Pra Inkubasi	Pasca Inkubasi	
30%	0,364	0,603	0,239
60%	0,423	0,680	0,257
90%	0,506	0,339	-0,671
Kontrol Positif	0,170	0,048	-0,122
Kontrol Negatif	0,050	0,341	0,291

spektrofotometer (λ 630 nm) menunjukkan hambatan pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* secara pasti yaitu dengan melihat penurunan nilai OD pra inkubasi dan pasca inkubasi (Munfaati *et al.*, 2014) yang disajikan pada Tabel 1. Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dapat ditentukan dengan mengukur selisih antara nilai OD pra inkubasi dan pasca inkubasi. Nilai Δ OD negatif menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi yang menandakan terjadinya penurunan jumlah sel yang telah diinkubasi selama 18 jam. Nilai Δ OD positif menunjukkan tidak adanya penurunan nilai OD yang berarti masih terjadi peningkatan jumlah sel bakteri pasca inkubasi. Nilai Δ OD yang tersaji dalam Tabel 1 menunjukkan nilai negatif hanya pada konsentrasi ekstrak 90% yakni sebesar -0,617 dan

juga perlakuan kontrol positif (cotrimoksazole) sebesar -0,122 pada konsentrasi ekstrak 30%, 60%, dan juga kontrol negatif (CMC 1%) tidak mengalami penurunan nilai OD pasca inkubasi ditandai dengan selisih Δ OD yang bernilai positif yakni sebesar 0,239 untuk konsentrasi 30%, 0,257 untuk konsentrasi 60% dan 0,291 untuk kontrol negatif yang artinya pada konsentrasi 30%, 60% dan perlakuan kontrol negatif (CMC 1%) tersebut masih terjadi peningkatan pertumbuhan bakteri *S. epidermidis*. Berdasarkan hasil diatas, maka ekstrak *P. australis* Hauck dengan konsentrasi 90% ditetapkan sebagai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak etanol *P. australis* Hauck terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis*.



Gambar 1. Hubungan antara nilai OD pemberian tiap seri konsentrasi ekstrak pra dan pasca inkubasi.

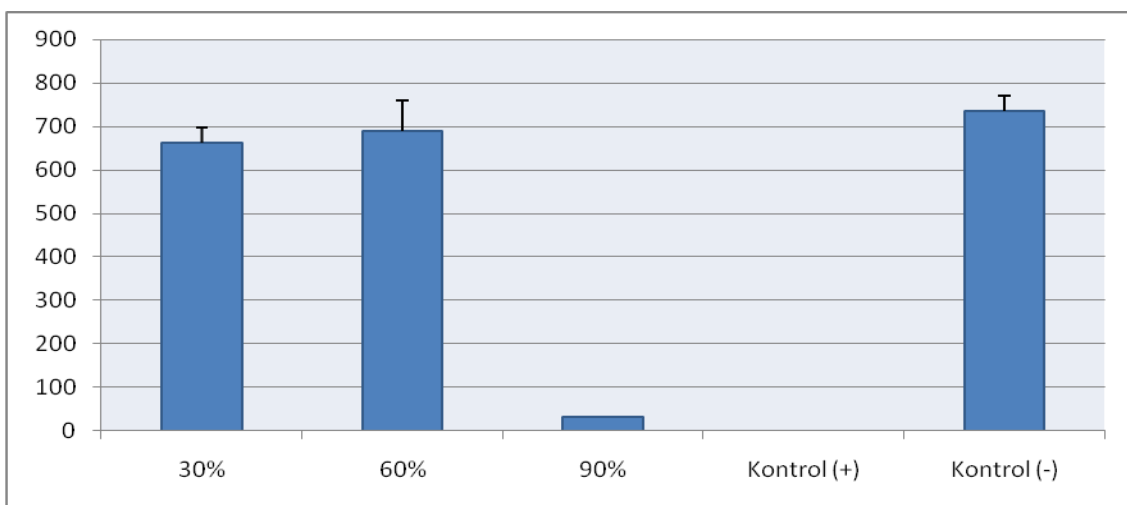
Tabel 2. Hasil Uji MBC ekstrak *Padina australis* terhadap bakteri *Staphylococcus. epidermidis*

Perlakuan	Total Koloni (CFU/plate)			Total	Rerata
	U _I	U _{II}	U _{III}		
30%	633	652	701	1986	662 ± 35,09
60%	752	702	612	2066	689 ± 70,95
90%	30	31	32	93	31 ± 1,00
Kontrol (+)	0	0	0	0	0
Kontrol (-)	771	700	738	2209	736 ± 35,53

Hasil pengujian MBC dengan menggunakan metode *pour plate* berupa jumlah koloni bakteri *S. epidermidis* yang tumbuh pada media NA tersaji pada Tabel 2. Data pada tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah rata-rata koloni yang tumbuh pada media NA paling banyak pada kontrol negatif (tanpa pemberian ekstrak *P. australis*) yaitu sebanyak 736 koloni sedangkan jumlah rata-rata koloni paling sedikit terdapat pada kontrol positif (cotrimoksazole) yakni sebanyak 0 koloni dan konsentrasi 90% sebanyak 31 koloni. Hasil uji MBC dianalisis secara statistika dengan menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Varians*) *one way* dengan taraf kepercayaan 95% dan diperoleh nilai $F_{hitung} = 199.047 >$ nilai $F_{table} = 5.14$ (H_0 ditolak = hipotesa nihil).

Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan seri konsentrasi uji ekstrak *P. australis* terhadap total koloni *S. epidermidis* yang tumbuh pada media NA.

Berdasarkan Uji Tukey dapat dilihat total koloni pada konsentrasi 30% lebih kecil 26,667 koloni dibandingkan total koloni pada konsentrasi 60% dan lebih besar 631,000 koloni pada konsentrasi 90%. Total koloni yang tumbuh pada konsentrasi 60% lebih besar 657,667 koloni dengan koloni yang tumbuh pada konsentrasi 90%. Total koloni yang tumbuh pada konsentrasi 90% lebih kecil 657,667 koloni dari total koloni yang tumbuh pada konsentrasi 60% sehingga dari keseluruhan pernyataan



Gambar 2. Rata-rata total koloni pada setiap perlakuan.

di atas menimbulkan interpretasi bahwa konsentrasi ekstrak *P. australis* yang paling baik digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* adalah konsentrasi 90%. Penurunan jumlah koloni bakteri *S. epidermidis* dalam penelitian ini disebabkan oleh aktivitas biologis (antibakteri) senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol *P. australis*. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan senyawa bioaktif seperti golongan steroid dan terpenoid yang terkandung dalam ekstrak *P. australis* berperan besar dalam menghambat pertumbuhan mikroba seperti bakteri.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol *Padina australis* memiliki bioaktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Nilai MIC ekstrak *P. australis* terhadap bakteri *S. epidermidis* adalah konsentrasi 90%. Nilai MBC tidak diketahui dikarenakan pada pengujian lanjut (MBC) konsentrasi yang menunjukkan nilai MIC merupakan konsentrasi tertinggi yaitu 90% masih ditemukan koloni bakteri yang tumbuh pada media NA.

DAFTAR PUSTAKA

- Aslan, L.M. 1998. *Budidaya Rumput Laut*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 96 hal.
- Jadulco, R.C. 2002, *Isolation and Structure Elucidation of Bioactive Secondary Metabolites from Marine Sponges and Sponge-derived Fungi*. Dissertation of Doktor grades, University of Wuerzburg. p 176.
- Kamiya, H., Endo, Y., Muramoto, K., Uchida, H., Sasaki, T., Uchida, N., Raj, U. 1987. *Antitumor Activity of the Macromolecular Fraction from a Fijian Tunicate Didemnum varians*. Nippon Suisan Gakkaishi 53 (3): 493-496.
- Munfaati, P. N., Evie, R., Guntur, M. 2014. *Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (Phyllanthus niruri) terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella dysenteriae Secara in Vitro*. Lantera Bio.
- Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., Eumkeb, G. 2005. *Antimicrobial properties and action of galangal (Alpinia galanga Linn.) on Staphylococcus aureus*. ELSEVIER. 1214-1220 pp.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, 14, 35, 107, 194*, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rineheart, K. L., Shield, L. S., Cohen-Parsons, M. 1993. *Antiviral substances. In: Marine Biotechnology, Vol. 1. Pharmaceutical and Bioactive Natural Products*, Attaway, D.H., Zaborsky, O.R. (eds). Plenum Press: New York and London; 309-342 pp.
- Sartoratto, A., Machado, Ana Lúcia M., Delarmelina, C., Figueira G. M., Marta Cristina T. Duarte, Vera Lúcia, Rehder, G.. 2004. *Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil From Aromatic Plants Used In Brazil. Brazilian Journal of Microbiology (2004) 35: 275-280*.
- Schmitz, F. J., Bowden, B. F., Toth S. I. 1993. *Antitumor and cytotoxic compounds from marine organism. In: Marine Biotechnology Vol. 1*.

Pharmaceutical and Bioactive Natural Products, Attaway, D.H., Zaborsky, O.R., (eds). Plenum Press: New York and London; 197-308 pp.

Singkoh, M. F. O. 2008. *Uji Farmasitika pada Alga Laut Gracilaria edulis (S. G. Gmelin) P. C. Silva, Caulerpa racemosa (Forsskal) J. Agardh, Boergesenia forbesii (Harvey) J. Feldmann, Halimeda macroloba Decaisne dari Perairan Pulau Nain Kabupaten Minahasa Utara Sulawesi*. Tesis. Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Sutton, S. 2011. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *Journal of Validation Technology*. 17: 46-49.