

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA SPONS DARI PERAIRAN SALIBABU KEPULAUAN TALAUD

(Antibacterial Activity of Several Sponges From the Salibabu Waters of the Talaud Islands)

Remus B. Maradou^{1*}, Fitje Losung¹, Remy E. P. Mangindaan¹, Rosita A. J. Lintang¹, Wilmy E. Pelle¹, Hariyani Sambali²

1. Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK Unsrat

*e-mail: remusbenyaminmaradou@gmail.com

ABSTRACT

Sponge is one component of coral reefs that has the potential as a bioactive compound however has not been widely used. This study was directed to obtain some spongy crude extracts from the Salibabu waters of the Talaud Islands, determine the antibacterial activity of some crude extruded sponges and compare the antibacterial activity of the sponge fraction against *E. coli* and *S. aureus* test bacteria. The results of identification of sponges were found in three species consisting of: *Siphonodictyon* sp., *Ircinia* sp., *Dysidea* sp. The antibacterial activity of crude extract, water, methanol and hexane fractions using agar diffusion method with *E. coli* and *S. aureus* test bacteria. The crude extract of *Siphonodictyon* sp and the water fraction of this extract showed the highest antibacterial activity.

Key words: Spons, Antibacterial, *E. coli*, *S. aureus*

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu komponen terumbu karang yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif namun belum banyak dimanfaatkan. Penelitian ini diarahkan untuk memperoleh beberapa ekstrak kasar spons dari perairan Salibabu Kepulauan Talaud, menentukan aktivitas antibakteri dari beberapa ekstrak kasar spons serta membandingkan aktivitas antibakteri fraksi spons terhadap bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil identifikasi spons ditemukan sebanyak tiga spesies yang terdiri dari: *Siphonodictyon* sp., *Ircinia* sp., *Dysidea* sp. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar, fraksi air, metanol dan heksan menggunakan metode difusi agar dengan bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstrak kasar *siphonodictyon* sp dan fraksi air dari ekstrak ini menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi.

Kata kunci : Spons, Antibakteri, *E. coli*, *S. aureus*.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki wilayah laut sangat luas dengan panjang pantai 99.093 km (Badan Informasi Geospasial, 2015). Hal ini berkaitan erat dengan keanekaragaman sumberdaya hayati laut yang tinggi, salah satunya ialah ekosistem terumbu karang. Dalam ekosistem terumbu karang hidup berbagai biota laut, termasuk di dalamnya spons laut. Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi senyawa bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan (Muniarsih dan Rachmaniar, 1999). Spons laut memiliki potensi bioaktif yang sangat besar selama kurang lebih 50 tahun terakhir banyak senyawa bioaktif yang telah ditemukan dari spons (Bara, 2007). Berbagai substansi bioaktif telah berhasil ditemukan seperti antibakteri dari spons yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri (Mangindaan *et al.*, 1997).

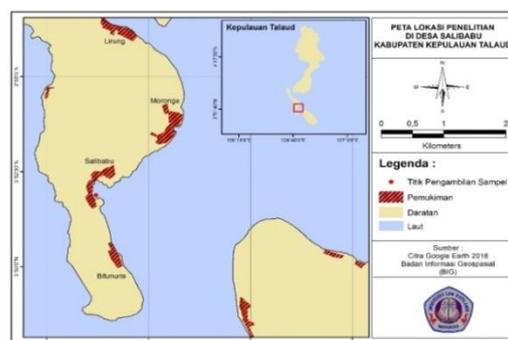
Resistensi antibiotik merupakan permasalahan penting di bidang kesehatan. Berbagai jenis kuman patogen berkembang menjadi resisten terhadap satu atau beberapa jenis antibiotik. Resistensi terjadi akibat penggunaan antibiotik yang tidak rasional sehingga antibiotik yang dulunya berpotensi dalam membunuh bakteri kehilangan kemampuannya (Wang *et al.*, 2006). Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan ancaman serius terhadap bidang kesehatan, karena itu diperlukan penemuan dan pengembangan jenis antibiotik baru yang dapat melawan mekanisme resistensi yang sudah ada. Kebutuhan antibiotik baru masih sangat diperlukan, terutama yang efektif melawan bakteri resisten (Suwandi, 1993). Untuk menanggulangi permasalahan tersebut maka perlu dilakukan eksplorasi dan

pengembangan terhadap berbagai sumber senyawa antibiotik misalnya bahan bioaktif dari spons laut.

METODE PENELITIAN

Pengambilan dan Penanganan Sampel Spons

Sampel spons diambil dari perairan Salibabu Kepulauan Talaud (Gambar 1). Proses pengambilan sampel dilakukan dengan cara dipotong langsung pada substratnya pada kedalaman air kurang dari 0,5 meter. Selanjutnya sampel spons ditimbang untuk mengetahui berat sampel.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel

Identifikasi Spons

Identifikasi spons dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna dan tekstur tubuh yang dimiliki spons. Hasil pengamatan morfologi spons kemudian dilihat pada situs www.spongeguide.org.

Ekstraksi Spons

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Sampel spons ditimbang untuk mengetahui berat sampel. Kemudian sampel dipotong-potong berbentuk dadu/kubus lalu dimasukkan kedalam botol dan direndam dengan etanol 95% selama 1x24 jam kemudian disaring menggunakan kertas saring *Whatman*. Kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C sampai etanol benar-benar menguap hingga tersisa ekstrak

kasar/*crude extract*. Ekstrak kasar kemudian ditimbang untuk mengetahui berat ekstrak kasar yang diperoleh.

Partisi Spons

Ekstrak kasar yang diperoleh dari hasil evaporasi dipartisi dengan pelarut air, etil asetat, metanol dan n-heksan. Prosedur kerja partisi dilakukan dengan menambahkan air dan etil asetat pada ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah (*separatory funnel*) lalu dikocok dan didiamkan selama 10 menit, sehingga terlihat 2 lapisan yaitu lapisan air dan lapisan etil asetat. Masing-masing lapisan dikeluarkan dan ditampung dalam wadah. Lapisan etil asetat dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C ekstrak etil asetat kemudian dipartisi kembali dengan menambahkan pelarut heksan dan metanol (perbandingan 1:1) selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah (*separatory funnel*) dikocok dan didiamkan selama 10 menit sehingga nampak adanya 2 lapisan yaitu lapisan heksan dan lapisan metanol. Fraksi-fraksi hasil partisi yaitu fraksi air, metanol dan n-heksan dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* sampai kering kemudian ketiga fraksi diperoleh ditimbang.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini seperti gelas erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi dan beberapa peralatan gelas lainnya dicuci bersih, dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan dalam oven pada suhu 160°C selama \pm 120 menit (sterilisasi kering). Sedangkan untuk media di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C (sterilisasi basah).

Pembuatan Media

Media Nutrient Broth (NB)

Media Nutrient Broth dibuat sebanyak 2 erlenmeyer yang digunakan untuk kultur bakteri *E. coli*

dan *S. aureus*. Pembuatan media Nutrient Broth dilakukan dengan cara melarutkan 0,65 gram Nutrient Broth ke dalam 50 ml air kemudian dihomogenkan. setelah itu erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil dan diautoklaf pada suhu 121 °C selama kurang lebih 15 menit.

Kultur Bakteri

Media Nutrient Broth yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan masing-masing bakteri yaitu bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Bakteri diambil menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer, setelah itu dibungkus dengan kertas aluminium foil dan dibiarkan selama 1x24 jam.

Media Nutrient Agar

Prosedur pembuatan media Nutrient Agar (NA) sebagai berikut : 1 gram Nutrient Broth (NB), 1,5 gram Agar dan 100 ml air. Media Nutrient Agar dibuat dalam dua erlenmeyer untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Media dalam erlenmeyer dihomogenkan, setelah itu ditutup menggunakan aluminium foil untuk diautoklaf pada suhu 121 °C selama kurang lebih 15 menit. Selanjutnya media dibiarkan sampai hangat lalu masukkan masing-masing bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. yang sebelumnya telah dikultur pada media Nutrient Broth menggunakan mikropipet yang berukuran 1000 μ l diambil sebanyak 1000 μ l atau 1 ml, kemudian ditutup dan dibungkus kembali dengan kertas aluminium foil dan diaduk dengan cara menggoyangkan erlenmeyer satu arah, setelah itu dituangkan ke dalam setiap cawan petri.

Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif

Pengujian antibakteri ekstrak kasar dan fraksi spons menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding, dimana kontrol positif menggunakan obat kloramfenikol

yang sudah (paten) digunakan sebagai obat antibakteri dan kontrol negatif menggunakan etanol yang digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi. Kontrol positif dibuat dengan melarutkan 250 mg obat kloramfenikol ke dalam 250 ml air. Kontrol negatif menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 40%.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan pada penelitian pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar dan fraksi spons adalah metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Kertas cakram (*paper disc*) yang digunakan pada pengujian antibakteri ini berukuran 6 mm dengan daya serap 50 µl tiap kertas cakram.

Proses pengujian menggunakan konsentrasi 100 mg/ml. pada kertas cakram ditotolkan sebanyak 50 µl ekstrak kasar, fraksi air, fraksi metanol, fraksi heksan, kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (etanol 40%). Setelah selesai, seluruh kertas cakram diletakkan diatas media yang berisikan masing-masing bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*.

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi berakhir sehingga tepian atau pinggir zona hambat dapat ditetapkan sebagai diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara mengukur diameter total zona hambat dari kertas cakram (Mokodompit *et al.*, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan dan Penanganan Sampel Dilapangan

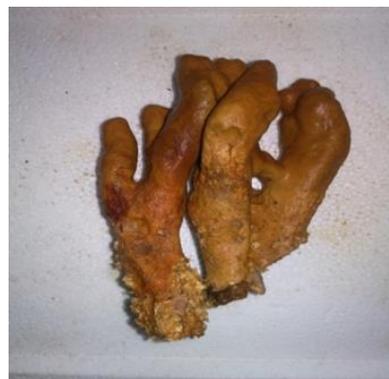
Pengambilan sampel dilakukan di perairan Salibabu Kepulauan Talaud. Di dapatkan tiga jenis spons dengan berat masing-masing sampel seperti yang ditunjukkan oleh Tabel 1.

Tabel 1. Berat Sampel

No	Kode Sampel	Berat Basah (g)
1	Sal 1	535
2	Sal 2	479
3	Sal 3	456

Identifikasi Sampel

Tiga spesies spons yang diambil dari perairan Salibabu Kepulauan Talaud telah diidentifikasi berdasarkan warna, bentuk dan tekstur tubuh yang dimiliki spons menurut panduan www.spongeguide.org. Hasil identifikasi tiga jenis spons, diketahui ciri-ciri spons seperti yang tertera pada Gambar 2, 3, 4.



Gambar 2. *Siphonodictyon* sp



Gambar 3. *Ircinia* sp



Gambar 4. *Dysidea* sp

Ekstraksi Spons

Dari hasil ekstraksi dengan metode maserasi selama 1x24 jam didapatkan filtrat yang di dalamnya diduga mempunyai senyawa aktif. Filtrat disaring dan dievaporasi didapatkan ekstrak kasar spons dengan berat masing-masing ekstrak kasar spons seperti tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Berat Ekstrak Kasar Spons.

Sampel	Berat Basah (g)	Berat Ekstrak kasar (g)
<i>Siphonodictyon</i> sp	535	34,6
<i>Ircinia</i> sp	479	16,8
<i>Dysidea</i> sp	456	17,4

Partisi Spons

Ekstrak kasar yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar dilanjutkan dengan partisi. Ekstrak kasar yang dipartisi yaitu ekstrak *Siphonodictyon* sp. Partisi menggunakan 4 jenis pelarut yaitu pelarut air, etil asetat, metanol, dan n-heksan. Partisi ekstrak menggunakan pelarut air dan etil asetat menampilkan dua lapisan terpisah, lapisan air di bagian bawah dan lapisan etil asetat di bagian atas. Hal ini dikarenakan kepolaran air lebih tinggi dibandingkan dengan kepolaran etil asetat. Lapisan etil asetat di evaporasi dan dipartisi kembali menggunakan pelarut metanol dan heksan. Dari proses partisi kedua lapisan terpisah dengan lapisan metanol pada bagian bawah dan heksan pada bagian atas.

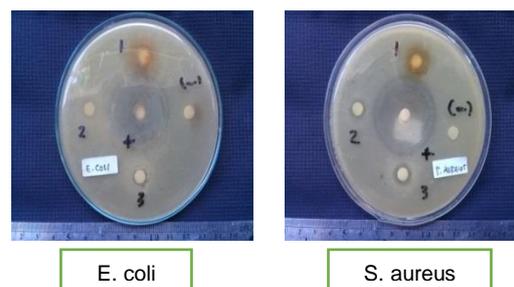
Kemudian masing-masing lapisan dievaporasi dan ditimbang untuk mendapatkan berat ekstrak dari masing-masing fraksi Tabel 3.

Tabel 3. Berat Fraksi Spons

No.	Fraksi Sampel	Berat Fraksi (g)
1.	Fraksi Air	1,078
2.	Fraksi Metanol	1,227
3.	Fraksi N-heksan	1,176

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak kasar Spons

Dari hasil pengujian tiga ekstrak kasar spons yaitu *Siphonodictyon* sp, *Ircinia* sp, dan *Dysidea* sp, kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (etanol 40%) yang diujikan pada bakteri *E.coli*, dan *S. aureus*. Gambar 5.



Gambar 5. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar.

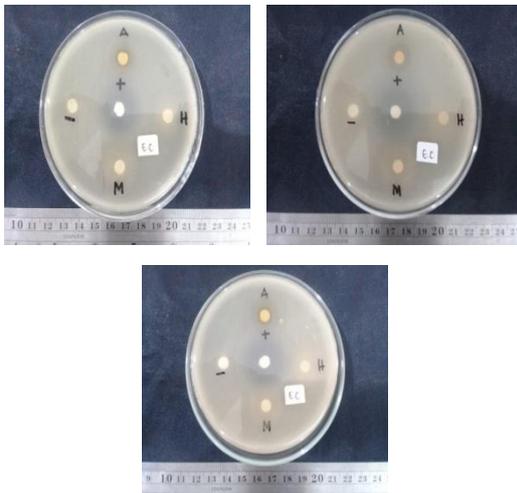
Hasil pengukuran zona hambat yang ditunjukkan oleh ketiga ekstrak kasar, kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (etanol 40%), diketahui bahwa ketiga ekstrak kasar spons dapat memberikan zona hambat terhadap bakteri *E.coli* dan *S. aureus*.

Tabel 4. Diameter Zona Hambat Ekstrak Kasar Spons

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Siphonodictyon</i> sp	11.00	15.00
<i>Ircinia</i> sp	8.00	10.00
<i>Dysidea</i> sp	7.00	11.00
Kontrol positif	20.00	24.00
Kontrol negatif	-	-

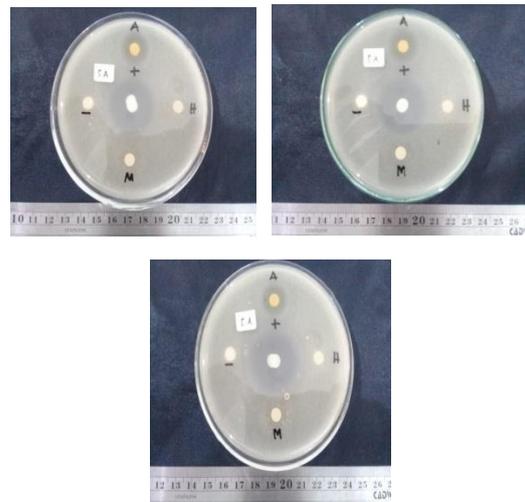
Pengujian Aktivitas Fraksi Partisi Spons

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak uji terhadap bakteri *E.coli* (Gambar 6) pada ketiga ulangan hanya fraksi air dan kontrol positif yang menunjukkan zona hambat (*inhibitory zone*). Fraksi air menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (10, 00 mm), ulangan II (11,00 mm), dan ulangan III (11,00 mm). Selanjutnya kontrol positif (kloramfenikol) menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (20,00 mm), Ulangan II (21,00 mm), dan Ulangan III (19,00 mm).



Gambar 6. Aktivitas antibakteri fraksi partisi pada media bakteri *E.coli*.

Aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* (Gambar 7) pada ketiga ulangan hanya fraksi air dan kontrol positif yang menunjukkan zona hambat (*inhibitory zone*). Fraksi air menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (15,00 mm), pada ulangan II (14,00 mm), dan Ulangan III (14,00 mm). Selanjutnya kontrol positif (kloramfenikol) menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (25,00 mm), ulangan II (25,00 mm), dan ulangan III (25,00 mm)



Gambar 7. Aktivitas antibakteri fraksi partisi pada media bakteri *S. aureus*.

Tabel 5. Rerata zona Hambat Fraksi *Siphonodictyon* sp terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*.

<i>Siphonodictyon</i> sp	Rerata Zona Hambat Media <i>E.coli</i> dan <i>S. aureus</i> (mm)	
	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
Fraksi Air	10.66	14.33
Fraksi N-heksan	-	-
Fraksi Metanol	-	-
Kontrol (-)	-	-
Kontrol (+)	20.00	25.00

Menurut Davis dan Stout (1971) penggolongan kriteria kekuatan suatu bahan antibakteri adalah sebagai berikut, yakni diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, dan zona hambat 5-10 dikategorikan sedang, sedangkan diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan bahkan lebih dari 20 dinyatakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kuat. Dari data yang ditampilkan oleh Tabel 8 dapat dijelaskan bahwa hanya fraksi air memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*. Pada bakteri *E.coli* zona hambat yang dihasilkan 10.00 mm (tergolong sedang) dan pada bakteri *S. aureus* zona hambat 14.00 mm (tergolong kuat).

Dari hasil yang ditunjukkan diatas bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri daripada Gram negatif dikarenakan struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

Kontrol positif kloramfenikol yang dipakai memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak uji. Faktor yang mempengaruhi karena *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) kloramfenikol yang digunakan telah murni sebagai antibiotik serta telah diketahui bahwa kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas, sedangkan untuk kemampuan senyawa dari sampel spons belum diketahui (Patel *et al.*, 2014).

Kontrol negatif berfungsi untuk menguji apakah pelarut etanol bisa memberikan penghambatan terhadap bakteri atau tidak. Pada pengujian terlihat bahwa kontrol negatif tidak memperlihatkan aktivitas antibakteri, hal ini berarti daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut.

Dari hasil pengujian antibakteri didapatkan bahwa senyawa antibakteri dari ekstrak spons, bersifat polar dikarenakan hasil yang ditunjukkan yaitu hanya fraksi air dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*. Dibandingkan dengan hasil penelitian Wewengkang *et al.*, (2014) dari spons *Haliclona* sp didapatkan senyawa antibakteri bersifat semipolar dikarenakan hasil yang diperoleh hanya fraksi semipolar yakni fraksi kloroform dan metanol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*.

Senyawa antibakteri dapat digolongkan juga sebagai spektrum luas dan spektrum sempit. Spektrum luas artinya senyawa tersebut bekerja aktif terhadap banyak jenis bakteri baik bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Sedangkan spektrum sempit artinya suatu senyawa bekerja aktif hanya terhadap satu golongan bakteri saja dan hanya pada bakteri Gram positif ataupun hanya pada bakteri Gram negatif (WHO, 2014). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa antibakteri dari spons yang terdapat pada fraksi air tergolong berspektrum luas dikarenakan kemampuannya menghambat bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

KESIMPULAN

Ekstrak kasar dari tiga jenis spons yaitu : *Siphonodictyon* sp, *Ircinia* sp, *Dysidea* sp, masing-masing sebanyak 34,6 gram, 16,8 gram, 17,4 gram. Daya hambat ekstrak spons baik untuk bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* menunjukkan bahwa *Siphonodictyon* yang terkuat diikuti dengan *Ircinia* dan *Dysidea*. Aktivitas antibakteri fraksi air dari ekstrak *Siphonodictyon* sp mencapai setengah dari kontrol positif. Senyawa-senyawa aktif dalam fraksi ini bersifat polar.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Informasi Geospasial. 2015. Diakses pada 12 Mei 2016 dari <https://www.bakosurtanal.go.id>.
- Bara, R. 2007. Study metabolic rate and metabolism in the spongs *Haliclona oculata* using different ¹³C labeled substrates. Thesis. Wageningen University. The Netherlands. 47 pp.
- Davis dan Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. Journal Of Microbiology. Vol 22 No 4.
- Kusmiyati, dan N.W.R. Agustini. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*) J. Biod. 8(1): Hal. 48-53.
- Mangindaan, R. E. P., Nainggolan I. G. S., Losung F. 1997. Anti Mikroba dari Sponge di Teluk Manado. Prosiding Seminar Nasional Hasil dalam Bidang Farmasi. ISBN: 979- 95406-0 (7):544-548.
- Mokodompit, A., Boekoesoe, L., Mustapa, M. A. 2015. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Spons Laut (Porifera: Demospongiae) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*. Hal. 3-6.
- Muniarsih T., Rachmaniar R. 1999. Isolasi substansi bioaktif antimikroba dari spons asal Pulau dari Kepulauan Seribu. Prosidings seminar bioteknologi kelautan Indonesia. Jakarta 14 – 15 Oktober 1999: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta.
- Patel, J.B., F.R. Cockerill., J. Alder., P.A. Bradford., G.M. Eliopoulos., D.J. Hardy., J.A. Hindler., S.G. Jenkins., J.S. Lewis., L.A. Miller., M. Powell., J.M. Swenson., M.M. Traczewski., J.D. Turnigde., M.P. Weinstein., B.L. Zimmer. 2014. Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Fourth Informational Supplement. Vol 34. Clinical and Laboratory Standards Institute. Hal 30-40.
- Suwandi, U., 1993, Skringing Mikroorganisme Penghasil Antibiotika, Cermin Dunia Kedokteran, No. 89.
- Wang, G., Hindler, J.F., Ward, K.W., and Bruckneer, D.A. 2006. *Increased Vancomycin MICs for Staphylococcus aureus Clinical Isolats from a University Hospital during a 5-years Period.*
- Wewengkang, D.S., Sumilat, D.A., Rotinsulu, H. 2014. Karakterisasi dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons *Haliclona* sp. dari Teluk Manado. Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi. ISSN: 24076074. 1(1): 71–85.
- WHO. 2014. Antimicrobial resistance: global report on survaillance 2014. World Health Organization. 257 Hal.