

AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK ASCIDIAN *Herdmania momus* PADA MIKROBA PATOGEN MANUSIA

Vidhiya Nanda Mujipradhana¹⁾, Defny S. Wewengkang¹⁾, Edi Suryanto²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

²⁾Program Studi Kimia FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Ascidian is one of the marine biota that has not received serious attention, but has considerable potential in Indonesian waters. Potential ascidians serve as exploratory material for the search for new bioactive compounds as drug candidates for the pharmaceutical world. This study aims to determine the antimicrobial activity of extract and ascidian fraction of Herdmania momus obtained from Manado bay against Staphylococcus aureus, Escherichia coli, and Candida albicans. Samples were extracted by maceration and fractionation using ethanol, methanol, chloroform, and n-hexane. Antimicrobial activity was performed by agar diffusion method (Kirby and Bauer). The results showed that rough extract of ethanol, methanol fraction, chloroform fraction, and n-hexane fraction effectively inhibited microbial Staphylococcus aureus, Escherichia coli, and Candida albicans, extracts and fractions were categorized medium except for n-hexane fraction against Candida albicans microorganisms were very strong categorized based on the theory of Davis and Stout.

Keywords : *Ascidian Herdmania momus, antimicrobial activity, inhibitory zone, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Candida albicans.*

ABSTRAK

Ascidian merupakan salah satu biota laut yang belum mendapat perhatian yang serius, namun mempunyai potensi yang cukup besar di perairan Indonesia. Ascidian potensial dijadikan sebagai bahan eksplorasi pencarian senyawa bioaktif baru sebagai calon obat untuk dunia farmasi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan adanya aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi ascidian *Herdmania momus* yang diperoleh dari teluk Manado terhadap mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Sampel diekstraksi secara maserasi dan fraksinasi menggunakan etanol, metanol, kloroform, dan n-heksana. Aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi agar (Kirby dan Bauer). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol, fraksi metanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksana efektif menghambat mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*, ekstrak dan fraksi dikategorikan sedang kecuali untuk fraksi n-heksana terhadap mikroba *Candida albicans* dikategorikan sangat kuat berdasarkan teori Davis dan Stout.

Kata Kunci : *Ascidian Herdmania momus, aktivitas antimikroba, zona hambat, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Candida albicans.*

PENDAHULUAN

Perkembangan dunia pengobatan yang semakin pesat telah memunculkan beragam jenis obat-obatan baru. Penelitian untuk menemukan sumber metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk berbagai macam jenis bahan obat juga terus dilakukan. Sejak satu dekade terakhir ini, perhatian dunia pengobatan mulai terarah pada organisme laut sebagai sumber daya yang sangat potensial. Penelitian terhadap aktivitas suatu senyawa sebagai antimikroba merupakan suatu langkah awal untuk mengetahui kegunaan senyawa tersebut. Adanya senyawa aktif antimikroba di bidang kesehatan merupakan informasi penting untuk penanggulangan suatu penyakit yang disebabkan oleh mikroba (Dwijendra *et al.*, 2014).

Mikroba patogen merupakan salah satu penyebab penyakit pada manusia dan makhluk hidup lainnya (Juariah *et al.*, 2014). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa organisme laut memiliki potensi yang sangat besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat. Beberapa organisme laut yang diketahui dapat menghasilkan senyawa aktif, salah satunya adalah ascidians. Organisme ini diketahui dapat menghasilkan sejumlah besar produk laut yang bersifat alami, juga mampu menunjukkan keragaman senyawa kimia yang sangat besar (Thakur and Muller, 2004).

Ascidian merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif, sehingga menjadikan ascidian target yang sangat menarik karena keanekaragamannya yang tinggi dan unik diantara invertebrata laut karena menghasilkan sejumlah besar senyawa yang mengandung nitrogen (Wang and Namikoshi, 2007). Ascidian merupakan salah satu biota laut yang belum mendapat perhatian yang serius, namun mempunyai potensi yang cukup besar di perairan

Indonesia (Rudman, 2000). Ascidian potensial dijadikan sebagai bahan eksplorasi pencarian senyawa bioaktif baru sebagai calon obat untuk dunia farmasi (Wewengkang *et al.*, 2014). Ascidian termasuk ke dalam kelompok hewan invertebrata di ekosistem terumbu karang yang banyak menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif ascidian berfungsi sebagai pertahanan diri dan juga berfungsi bagi kehidupan manusia, yaitu sebagai antikanker, antiinflamasi, dan antimikroba (Khoeri, 2009).

Berdasarkan penelusuran pustaka di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian aktivitas antimikroba dari ascidian *Herdmania momus* yang terdapat di Teluk Manado.

METODE PENELITIAN

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian ini ialah eksperimen laboratorium yang akan menguji komponen yang diekstrak dari ascidian *Herdmania momus* sebagai antimikroba yang diperoleh dari Teluk Manado.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2018 sampai bulan Juni 2018 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia serta di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, pisau, talenan, peralatan diving berupa *snorkel*, *fins*, tabung udara, dan masker, kantong plastik, alat-alat gelas, *rotary evaporator*, timbangan analitik, cawan petri, autoklaf, pinset, pembakar spritus, *magnetic steerer*, pipet tetes, batang pengaduk, *Laminar Air Flow*, lemari pendingin, inkubator, kertas

cakram, mikropipet, jangka sorong (kaliper), kamera untuk keperluan dokumentasi.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu ascidian *Herdmania momus*, mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*, etanol 96%, akuades, metanol, n-heksan, kloroform, *nutrient broth*, nutrien agar, *potato dextrose agar*, siprofloksasin, kertas cakram, label, spidol permanen, *tissue*, *aluminium foil*, kertas saring, kapas.

Pengambilan Sampel

Sampel ascidian *Herdmania Momus* diambil dari perairan pulau Siladen menggunakan alat bantu (masker, tabung udara, *snorkel*, dan *fins*). Sampel dibersihkan dari kotoran yang menempel di sekitarnya, difoto lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik, kemudian langsung dibawa ke Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Kemudian sampel dipotong kecil-kecil dengan ukuran 1 cm² dan diekstraksi dengan cara maserasi dengan etanol 96% lalu diberi label serta nomor sampel. Sebagian dari sampel disimpan dalam vial untuk diawetkan sebagai *voucher* untuk selanjutnya dideterminasi.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Ekstrak ascidian *Herdmania momus* sebanyak 665 g diekstraksi dengan menggunakan cara maserasi. Sampel dipotong kecil-kecil dengan ukuran 1 cm² lalu dimasukkan ke dalam botol dan direndam dengan larutan etanol 96% sampai sampel terendam secara keseluruhan dan dibiarkan selama 24 jam. Sampel yang direndam disaring dengan menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 direndam dengan larutan etanol 96% sampai sampel terendam secara keseluruhan

kemudian dibiarkan selama 24 jam. Sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Debris 2 kemudian direndam dalam larutan etanol 96% sampai sampel terendam secara keseluruhan dan dibiarkan selama 24 jam, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 3 dan debris 3. Filtrat 1, 2 dan 3 dicampur menjadi satu kemudian disaring, lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapat ekstrak kasar ascidian *Herdmania momus* kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik, diperoleh ekstrak etanol sampel sebanyak 14,298 g. Selanjutnya ekstrak etanol ascidian *Herdmania momus* digunakan dalam fraksinasi dan pengujian antimikroba.

Fraksinasi Pelarut

Sebanyak 10,00 g ekstrak etanol *Herdmania momus* dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan metanol 80% sebanyak 100 mL. Setelah sampel larut, sampel dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL. Sampel kemudian dikocok berulang kali dalam corong pisah hingga homogen. Sampel dibiarkan hingga membentuk lapisan metanol (MeOH) dan lapisan n-heksan. Masing-masing lapisan metanol dan lapisan n-heksan ditampung di dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering, lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksi n-heksan sebanyak 0,1982 g.

Selanjutnya lapisan metanol ditambahkan dengan akuades 100 mL, kemudian dipartisi dengan pelarut kloroform menggunakan perbandingan 1:1 v/v setelah itu dikocok dalam corong pisah hingga homogen. Lapisan metanol dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yaitu lapisan metanol dan lapisan kloroform. Masing-masing lapisan metanol dan lapisan kloroform ditampung ke dalam wadah yang berbeda.

Lapisan kloroform dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksi kloroform sebanyak 0,138 g. Lapisan metanol yang ditampung pada wadah lain dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksi metanol sebanyak 2,0085 g. Ketiga fraksi yang diperoleh akan digunakan dalam pengujian antimikroba. Rendemen-rendemen ekstrak dan fraksi dihitung dengan persamaan berat hasil ekstrak/fraksi dibagikan dengan berat awal ekstrak/fraksi kemudian dikalikan dengan 100%.

Sterilisasi dan Pembuatan Media

Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas yang digunakan dalam penelitian aktivitas antimikroba ini disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, pinset dibakar dengan pembakaran di atas api langsung dan media disterilkan di autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Ortez, 2005).

Pembuatan Media Agar Miring

Ditimbang Nutrien Agar (NA) sebanyak 0,784 g dilarutkan dalam 28 mL akuades dan Potato Dextrose Agar (PDA) sebanyak 0,588 g dilarutkan dalam 14 mL akuades menggunakan erlenmeyer dan diaduk hingga homogen. Media yang telah homogen kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan dibiarkan pada suhu ruangan sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media agar miring digunakan untuk kultur mikroba uji.

Pembuatan Media Uji NA

Ditimbang Nutrien Agar (NA) sebanyak 5,04 g, dilarutkan dalam akuades sebanyak 180 mL (28 g/1.000 mL) menggunakan Erlenmeyer. Kemudian dihomogenkan dengan *magnetic steerer*. Media yang telah homogen kemudian

disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan dibiarkan sampai media cukup dingin. Selanjutnya media Nutrien Agar yang masih cair tersebut dituang ke dalam cawan petri sebanyak 30 mL (Ortez, 2005).

Pembuatan Media Uji PDA

Ditimbang Potato Dextrose Agar (PDA) sebanyak 3,78 g, dilarutkan dalam akuades sebanyak 90 mL (42 g/1.000 mL) menggunakan Erlenmeyer. Kemudian dihomogenkan dengan *magnetic steerer*. Media yang telah homogen kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan dibiarkan sampai media cukup dingin. Selanjutnya media Nutrien Agar yang masih cair tersebut dituang ke dalam cawan petri sebanyak 30 mL.

Kultur Mikroba

Mikroba yang akan digunakan yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Media cair B1 yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan dengan masing-masing mikroba yang sudah dikultur sebanyak 100 µL ke dalam enam tabung reaksi yang berbeda. Tiap tabung reaksi ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* untuk menghindari kontaminasi dan diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37° C selama 1x24 jam (Ortez, 2005).

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*).

Pembuatan Larutan Mac Farland 0,5

Larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan larutan BaCl₂ 1,175% sebanyak 0,05 mL dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi mikroba uji (Whitman *et al.*, 2010).

Pembuatan Suspensi Mikroba Uji

Mikroba uji yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans* yang telah diinokulasi diambil ± 1 ose kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 mL larutan NaCl 0,9% sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Macfarland* 0,5.

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif dalam pengujian aktivitas antimikroba ini menggunakan *ciprofloxacin paper disc*. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metanol untuk menguji apakah pelarut metanol memberikan pengaruh terhadap aktivitas daya hambat, dengan cara membuat larutan stok metanol dengan mengambil sebanyak 200 μ L metanol kemudian ditotolkan pada kertas cakram. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding dan pelarut untuk pembuatan larutan kontrol positif dan pembuatan larutan uji.

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan ekstrak etanol *Herdmania momus* sebanyak 1 mg ke dalam 200 μ L aquades sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250 μ g/50 μ L. Perlakuan yang sama dilakukan untuk fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol (Ortez, 2005).

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Aktivitas penghambatannya diuji terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Candida albicans* ATCC 12321 yang digunakan sebagai mikroorganisme uji. Pada pengujian aktivitas antimikroba digunakan kertas cakram yang berukuran 6 mm dengan daya serap 50 μ L tiap cakram. Suspensi mikroba kemudian diinokulasikan ke dalam media dan

dihomogenkan. Kemudian media yang telah diinokulasi mikroba dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 30 mL dan ditunggu hingga media mengeras. Sampel yang telah ditentukan konsentrasinya (250 μ g/50 μ L) ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Masing-masing cawan petri diberi label dan nomor sampel yang sesuai. Kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji ascidian *Herdmania momus* diletakkan ke dalam cawan petri dengan pinset lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam (Ortez, 2005).

Pengamatan dan Pengukuran Zona Bening

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan mikroba terhadap antibiotik atau bahan antimikroba yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona bening. Diameter zona bening diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong dengan cara diukur diameter zona bening horizontal ditambahkan dengan diameter zona bening vertikal lalu dibagi dua. Kemudian zona bening yang telah diukur, dibandingkan berdasarkan pedoman Davis dan Stoud (1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi Pelarut

Sampel ascidian *Herdmania momus* yang telah diambil dari perairan Siladen dipotong kecil-kecil dengan ukuran ± 1 cm². Hal ini bertujuan untuk memperbesar ukuran permukaan sampel sehingga proses ekstraksi berjalan optimal karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara pelarut dan sampel semakin besar (Mardiyah *et al.*, 2014). Sampel kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

Metode maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam maupun bahan laut, karena dengan perendaman sampel akan terjadi pemecahan

dinding sel dan membran sel karena perbedaan tekanan antara di dalam dan luar sel, sehingga metabolit sekunder akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur perendaman yang dilakukan. Tujuan pemilihan metode maserasi karena cara pengerjaannya yang sederhana dan cepat namun sudah dapat menarik senyawa kimia dari sampel dengan maksimal. Keuntungan utama dari metode ini ialah tidak dilakukan pemanasan sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung di dalam sampel akibat pengaruh suhu dan senyawa yang tidak tahan pemanasan (Sa'adah *et al.*, 2015). Untuk mendapatkan penyarian yang maksimal, agar senyawa kimia di dalam sampel dapat terekstrak secara menyeluruh maka dilakukan remaserasi atau pengulangan dengan penggantian pelarut sebanyak tiga kali. Maserasi lebih efisien bila dilakukan berulang kali dengan jumlah pelarut yang lebih kecil dibandingkan dengan jumlah pelarutnya banyak tetapi maserasinya hanya dilakukan sekali (Khopkar, 2008).

Menurut Suryanto (2012), pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain selektivitas, kelarutan, dan titik didih. Untuk pelarut maserasi sendiri digunakan etanol 96%. Alasan pemilihan etanol 96% sebagai pelarut dalam proses maserasi adalah karena lebih selektif, tidak toksik, absorbsinya baik dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur. Selain itu, etanol mempunyai sifat universal sehingga senyawa metabolit polar, semi polar dan non polar dapat tersari dengan sempurna. Etanol 96% akan lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam sel simplisia daripada pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, sehingga ekstrak yang dihasilkan akan pekat.

Hasil maserasi selanjutnya dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator*. Prinsip

kerja dari alat ini menggunakan prinsip vakum destilasi, adanya tekanan mengakibatkan pelarut menguap pada suhu dibawah titik didihnya, sehingga kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam pelarut tidak mengalami kerusakan oleh suhu yang tinggi (Hermansah *et al.*, 2015).

Setelah diperoleh ekstrak kering etanol dari hasil maserasi, tahap selanjutnya adalah fraksinasi menggunakan variasi pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda, yaitu metanol, kloroform, dan n-heksana, pemilihan pelarut ini dimaksudkan agar senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dapat terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai.

Tabel 1 . Rendemen ekstrak dan fraksi ascidian *Herdmania momus*.

No.	Sampel	Rendemen (%)	Warna sampel
1.	EE	2,1	Kuning kecoklatan
2.	FH	1,98	Orange
3.	FK	1,38	Coklat
4.	FM	20,08	Coklat pekat

Keterangan :

- EE = Ekstrak Etanol
- FH = Fraksi n-heksana
- FK = Fraksi Kloroform
- FM = Fraksi Metanol

Tabel 1 menunjukkan rendemen dari masing-masing ekstrak. Untuk ekstrak etanol, didapatkan massa dari ekstrak sejumlah 14,298 g dari massa sampel yang dimaserasi sebanyak 665 g, sehingga didapatkan rendemen 2,15 % dengan warna filtrat berupa kuning kecoklatan. Selanjutnya ekstrak etanol difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, kloroform, dan metanol. Tahap awal fraksinasi dilakukan dengan melarutkan 10,00

g ekstrak etanol hasil maserasi dengan menggunakan pelarut metanol, lalu dipartisi dengan menggunakan pelarut n-heksan, didapatkan filtrat n-heksan berwarna orange dengan massa hasil fraksi sebanyak 0,1982 g sehingga didapatkan rendemen 1,98 %. Metanol kemudian dipartisi kembali dengan pelarut kloroform, didapatkan filtrat kloroform berwarna coklat dengan massa hasil fraksi 0,138 g, sehingga didapatkan rendemen 1,38 % dan didapatkan filtrat metanol berwarna coklat pekat dengan massa hasil ekstrak sebanyak 2,0085 g, sehingga didapatkan rendemen 20,08%.

Perbedaan nilai rendemen ini disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang berbeda akan melarutkan senyawa-senyawa yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya. Oleh sebab itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan pun juga tergantung jenis pelarutnya.

Jumlah rendemen ekstrak bergantung pada kondisi alamiah senyawa, metode ekstraksi, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu ekstraksi, serta perbandingan sampel dengan pelarut (Harborne, 1987). Jumlah rendemen terbesar ditunjukkan oleh fraksi metanol dengan nilai sebesar 20,08%. Tingginya rendemen yang terdapat pada pelarut metanol menunjukkan pelarut tersebut mampu mengekstrak lebih banyak komponen bioaktif yang memiliki sifat kepolaran yang lebih tinggi. Hal tersebut dapat terjadi karena metanol memiliki gugus polar yang lebih kuat daripada gugus nonpolar, hal ini dapat terlihat dari struktur kimia metanol yang mengandung gugus hidroksil (polar) dan gugus karbon (nonpolar) (Ukhty, 2011). Keadaan inilah yang diduga menyebabkan metanol mampu mengekstrak lebih banyak komponen bioaktif yang bersifat sangat polar dan sedikit non polar yang terdapat dalam ascidian *Herdmania momus*.

Uji Aktivitas Antimikroba Ascidian *Herdmania momus*

Pengujian aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol, fraksi metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi kloroform pada mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans* menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby dan Bauer yang dimodifikasi). Metode ini menjadi pilihan karena untuk tujuan klinis dengan mempertimbangkan kesederhanaan teknik, ketelitian, metode serbaguna bagi semua bakteri patogen yang tumbuh cepat dan sering digunakan dalam uji kepekaan antibiotik dalam program pengendalian mutu.

Mikroba uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* untuk mewakili bakteri Gram positif, *Escherichia coli* untuk mewakili bakteri Gram negatif dan *Candida albicans* untuk mewakili jamur. Penggunaan mikroba ini bertujuan untuk mengetahui bahwa apakah ekstrak dan fraksi dari *Herdmania momus* memiliki aktivitas antimikroba serta untuk mengetahui spektrum dari aktivitas antimikroba *Herdmania momus* apakah memiliki spektrum luas, yaitu dapat membunuh banyak jenis mikroba yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif, atau spektrum sempit yaitu hanya membunuh salah satu dari Gram positif atau negatif.

Dalam pengujian ini, hasil yang didapatkan yaitu adanya zona hambat disekeliling cakram yang berukuran 6 mm (*paper disc*) yang ditandai dengan zona bening, hal ini menunjukkan adanya kepekaan mikroba terhadap ekstrak atau fraksi dari *Herdmania momus* dan antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif. Pengamatan dilakukan setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing-masing mikroba, pengulangan dilakukan untuk lebih mengakuratkan hasil yang akan diperoleh.

Konsentrasi yang digunakan yaitu 250 µg dalam setiap *paper disc* yang memiliki daya serap 50 µL dari sampel ascidian *Herdmania momus* terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Hasil pengukuran rata-rata diameter daya antimikroba dari ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi n-heksan, dan fraksi metanol ascidian *Herdmania momus* terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil rata-rata pengujian ekstrak etanol dan fraksi ascidian *Herdmania momus* terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*.

	Rata-rata diameter (mm)					
	EE	Fr n-Heksan	Fr CHCL ₃	Fr MeOH	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
<i>S.aureus</i>	7,8	7,7	8	6,7	33,5	0,0
<i>E.coli</i>	7,5	7,5	7,8	7,8	30,5	0,0
<i>C.albicans</i>	8,5	27,9	7,8	6,8	24,5	0,0

Keterangan :

- EE = Ekstrak Etanol
- Fr n-Heksan = Fraksi n-heksana
- Fr CHCL₃ = Fraksi Kloroform
- Fr MeOH = Fraksi Metanol

Dalam pengujian ini digunakan kontrol positif dan negatif. Kontrol positifnya yaitu antibiotik siprofloksasin. Siprofloksasin dipilih sebagai kontrol positif yang merupakan larutan pembanding efek antara obat antimikroba baku dengan larutan ekstrak uji dalam hal ini ascidian *Herdmania momus*. Pemilihan antibiotik siprofloksasin sebagai kontrol positif karena antibiotik ini memiliki spektrum luas, yang biasa digunakan pengobatan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif diantaranya

Staphylococcus aureus, maupun Gram negatif diantaranya *Escherichia coli*, dan bersifat membunuh bakteri (bakterisid) (Sarro, 2001). Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri uji, sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas yang ditunjukkan oleh ekstrak/fraksi ialah zat yang terkandung dalam sampel bukan berasal dari pelarut yang digunakan. Kontrol negatif yang digunakan yaitu metanol.

Pada penelitian ini ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi n-heksan merupakan ekstrak/fraksi yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dibandingkan bakteri *Escherichia coli* (Gram negatif). Respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap senyawa antimikroba ini disebabkan karena adanya perbedaan kepekaan pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif terhadap senyawa antimikroba yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi ascidian *Herdmania momus*. Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antimikroba. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan, dan lapisan dalam lipopolisakarida (Pelczar & Chan, 1986).

Pada fraksi metanol, zona hambat yang ditunjukkan lebih besar pada bakteri *Escherichia coli* (Gram negatif) dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram positif). Hal ini sesuai dengan penelitian Renhoran (2012) yang menyatakan bahwa bakteri Gram negatif cenderung bersifat sensitif terhadap antimikroba yang bersifat polar.

Diameter zona hambat yang ditunjukkan pada fraksi metanol lebih kecil bila dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Walaupun pada fraksi metanol jika dilihat dari perbandingan persen rendemen mengandung senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak daripada fraksi n-heksan. Menurut Dwijendra *et al.*(2014) Hal ini mungkin disebabkan karena adanya kerja yang tidak sinergis antara senyawa metabolit sekunder dalam peranannya sebagai antimikroba.

Diameter zona hambat yang ditunjukkan pada fraksi n-heksan terhadap mikroba *Candida albicans* memiliki nilai yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya dalam mengambat pertumbuhan masing-masing mikroba. Menurut Roihanah *et al.* (2012) pelarut n-heksan adalah pelarut yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroba, hal ini disebabkan karena senyawa bioaktif yang terkandung pada ascidian mudah larut dalam pelarut non polar yang dapat berfungsi sebagai bahan antimikroba.

Berbeda dengan bakteri, jamur mempunyai struktur dinding sel yang sangat kompleks dengan rangka dasar yang terdiri dari polisakarida kristalin, kitin, dan β -glukan, dan suatu matriks yang terdiri dari polisakarida amorf dan kompleks proteinsakarida. Kitin dan β -glukan bertanggung jawab terhadap mekanisme dinding sel jamur (Siswandono dan Bambang, 1995).

Menurut Bhorgin (2014), besar kecilnya daerah hambat dipengaruhi oleh laju pertumbuhan mikroorganisme, kemampuan dan laju difusi bahan aktif pada medium, kepekaan mikroorganisme terhadap zat aktif serta ketebalan dan viskositas medium.

Ekstrak kasar etanol, fraksi kloroform, fraksi metanol dan fraksi n-heksan dari ascidian *Herdmania momus* berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971) menunjukkan

senyawa yang terkandung didalamnya memiliki aktivitas antimikroba yang kurang efektif atau berdaya hambat lemah kecuali untuk fraksi n-heksana terhadap jamur *Candida albicans* dikategorikan memiliki daya hambat kuat, namun ekstrak dan fraksi-fraksi ini bersifat spektrum luas, artinya kandungan senyawa tersebut memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

KESIMPULAN

Ekstrak dan fraksi ascidian *Herdmania momus* memiliki aktivitas antimikroba. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa untuk fraksi n-heksan terhadap jamur *Candida albicans* dikategorikan memiliki daya hambat yang sangat kuat, sedangkan ekstrak etanol, fraksi metanol, fraksi kloroform dan fraksi n-heksan dari ascidian *Herdmania momus* memiliki aktivitas antimikroba yang sedang terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam fraksi n-heksan ascidian *Herdmania momus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhorgin, A. J. and Uma, K. 2014. Antimicrobial Activity of Earthworm Powder (*Lampito mauritii*). *Int Jorunal of Current Microbiology and Applied Science*. 3 (1) : 437-443.
- Davis, W. W., and Stout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. 22: 659-665.
- Dwijendra, I., Defny, S.T., dan Frenly, W. 2014. Aktivitas Antimikroba dan Karakterisasi Senyawa Fraksi Spons *Lamellodysidea herbacea* yang Diperoleh dari Teluk Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(4) : 1-2.

- Hermansah, A., Harlia., Zahara, T. A. 2015. Skrinning Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Laban (*Vitex Pubescens* Vahl). *JKK*. 4 (2) : 69-70.
- Juariah, S., Suryanto, D., dan Jamilah, I. 2014. Aktivitas Antibakteri Spesies *Asterias Forbesii* terhadap Beberapa Jenis Bakteri Patogen. *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*. 42 (2) : 37-50.
- Khoeri, M. M. 2009. *Bioprospeksi Bakteri Symbion pada Tunikata Didemnum molle dari Perairan Pulau Sambangan Karimunjawa Jepara*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Khopkar, S. M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press, Jakarta.
- Mardiyah, U., Fasya, G. A. Fauziyah, B., dan Amalia, S. 2014. Ekstraksi Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Euclima spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Jurnal Achemy*. 3 (1) : 42.
- Ortez, J.H. 2005. *Disk Diffusion Testing in Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2 Diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S. S., dan Angka, S. L.* Universitas Indonesia, Jakarta.
- Renhoran, W. 2012. *Aktivitas Antioksidan dan Mikrobiologi Ekstrak Sargassum polycystum* [skripsi]. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor.
- Roihana S, Sukoso, Andayani S. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang (Holothuria Sp) Terhadap Bakteri Vibrio Harveyi Secara In-Vitro*. [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 2012.
- Rudman, W. B. 2000. *Ascidians – Sea Squirt, Tunicates Sea Slug Forum*. <http://www.seaslugforum.net/ascidian.htm> [diakses 12 Oktober 2017].
- Sa'adah, H., dan Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2) : 149-153.
- Siswandono dan Bambang, S. 1995. *Kimia Medisinal*. Erlangga, Surabaya.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Thakur, N. L., and Müller, W. E. G. 2004. Biotechnological potential of marine sponges. *Jurnal Current Science*. 86 : 1506-1512.
- Ukhty, N. 2011. *Kandungan Senyawa Fitokimia, Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Lamun (Syringodium Isoetifolium)*. [skripsi]. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wang, W., and Namikoshi, M. 2007. Bioactive Nitrogenous Metabolites from Ascidians. *Heterocycles*. 74 : 53-88
- Wewengkang, D.S., Sumilat, D.A., dan Rotinsulu, H. 2014. Sitotoksitas Ekstrak Kasar Ascidian dari Pulau Bunaken. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 1(1) : 86-89.