

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACTS AND FRACTIONS OF ASCIDIAN  
(*Lissoclinum badium*) FROM MANTEHAGE ISLAND WATERS**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI ASCIDIAN  
(*Lissoclinum badium*) DARI PERAIRAN PULAU MANTEHAGE**

**Falinry Woran<sup>1)\*</sup>, Defny Wewengkang<sup>1)</sup>, Meilani Jayanti<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

\*falinryibreine@gmail.com

**ABSTRACT**

*Lissoclinum badium* is a type of ascidian that contains bioactive compounds. This study aims to determine of presence of antibacterial activity from extracts and fractions of *Lissoclinum badium* collected from Mantehage Island Manado against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Samples were extracted by maceration method using 95% ethanol solvent and fractionated using solvents of chloroform, n-hexane and methanol. Antibacterial activity was carried out by the disk diffusion agar method. The results showed that the ethanol extracts and methanol fraction had activity to inhibit the growth of *Escherichia coli* bacteria with strong category. Meanwhile, against the *Staphylococcus aureus* the ethanol extracts, chloroform and n-hexane fractions had ability to inhibit the growth of bacteria with weak category..

**Keywords:** Antibacterial activity, *Lissoclinum badium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**ABSTRAK**

*Lissoclinum badium* merupakan salah satu jenis tunikata yang memiliki kandungan senyawa bioaktif yang dapat digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi *Lissoclinum badium* yang diperoleh dari Pulau Mantehage Manado terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95% dan fraksinasi menggunakan pelarut metanol, kloroform, dan n-heksan. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar cakram kertas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi metanol memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat kuat. Sedangkan untuk fraksi kloroform dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* saja dengan daya hambat sedang.

**Kata kunci:** Aktivitas antibakteri, *Lissoclinum badium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## PENDAHULUAN

Keanekaragaman organisme laut di Indonesia yang sangat tinggi memiliki potensi untuk menyokong perekonomian negara (Wagey, 2017). Indonesia sebagai negara yang kaya dengan keanekaragaman hayati, memiliki berbagai macam tanaman laut yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif (Lalamentik, 2017). Keanekaragaman organisme laut (*biodiversity*) juga mempunyai arti keanekaragaman senyawa kimia (*chemodiversity*) yang terkandung dalam organisme. Senyawa-senyawa tersebut dapat memiliki aktivitas biologis yang bervariasi dan berpotensi dikembangkan sebagai bahan obat (Dahuri, 2003).

Akhir-akhir ini para peneliti bahan alam cenderung untuk menemukan bahan obat dari laut yang dapat digunakan untuk berbagai penyakit termasuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri. (Rajasekar et al., 2012). Kebutuhan antibiotik yang terus meningkat, mendorong makin banyaknya penelitian untuk mengeksplorasi laut sebagai sumber substansi bioaktif (Brammavidhya dan Usharani, 2013). Salah satu biota laut yang berpotensi untuk dijadikan obat adalah hewan laut tunikata (ascidian).

Tunikata merupakan salah satu biota laut yang terdiri dari 3 kelas utama diantaranya, *Asciacea*, *Appendicularia*, *Thaliacea* (Dewanto, 2009). Pemanfaatan tunikat (ascidian) untuk pengobatan disebabkan karena tunikata kaya akan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai macam penyakit (Sumilat, 2018).

Senyawa bioaktif yang disintesis oleh ascidian merupakan metabolit sekunder, yaitu turunan dari metabolit primer yang digunakan dalam sistem pertahanan diri, untuk mempertahankan hidup dan menghindari gangguan dari organisme lain di lingkungan tempat hidupnya. Karena aktivitas farmakologinya maka senyawa tersebut memiliki prospek untuk diisolasi dan dimanfaatkan dalam bidang farmasi (Sumilat, 2018).

Salah satu jenis tunikata yang memiliki senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan adalah ascidian *Lissoclinum badium*. Hal ini disebabkan karena ascidian jenis *Lissoclinum badium* ini memiliki senyawa turunan alkaloid yakni *Lissoclibaldine* dan *lissoclinotoxin* (Oda T, dkk 2007)..

## METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai bulan Maret 2021 di Laboratorium Farmasi lanjut Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi.

### Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimen laboratorium yang menguji komponen ekstrak ascidian *Lissoclinum badium* yang diperoleh dari Pulau Mantehage sebagai antibakteri.

### Alat Dan Bahan

#### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker sensi, sarung tangan sensi, gunting, tabung oksigen, snorkel, fins, bagus *zipper lock bag*, botol 600 ml, talenan, *cool box*, pisau, Erlenmeyer (Pyrex), corong, eyela n-1100 *rotary evaporator*, Mettler Toledo timbangan analitik, corong pisah, gelas ukur, gelas kimia (Pyrex), cawan petri, GEA autoklaf, pinset, pembakar spritus, *magnetic stirrer*, pipet tetes, *micro tubes*, *hot plate*, batang pengaduk, Mascotte *Laminar air flow*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, lemari pendingin LG, inkubator, cakram (*paper disc*), mikropipet, mistar berskala, kertas label, spidol permanen

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu ascidian *Lissoclinum badium*, bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, etanol, akuades, metanol, n-heksan, kloroform, , agar, pepton, natrium klorida, ekstrak media agar B1 (*beef extract*) kloramfenikol *paper disc*, *tissue*, *aluminium foil*, kertas saring.

#### Pengambilan Sampel

Sampel ascidian *Lissoclinum badium* diambil dari Pulau Mantehage Manado menggunakan alat bantu (masker, snorkel, fins dan tabung oksigen). Sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam *zipper lock bag* dan diletakkan didalam *cool box*, kemudian dibawa ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Sampel difoto dan diberi label serta nomor sampel, untuk selanjutnya dideterminasi.

#### Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Sampel ascidian *Lissoclinum badium* direndam menggunakan larutan etanol 90%. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut etanol selama 3 kali 24 jam

pada temperature kamar dan sesekali dikocok. Kemudian diambil filtratnya, dan residunya dibuang. Sehingga menghasilkan 3 filtrat yang kemudian dicampur menjadi satu. Lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering yang terbentuk ekstrak kasar, ditimbang menggunakan timbangan analitik. Kemudian ekstrak kasar ascidian *Lissoclinum badium* difraksinasi.

#### **Fraksinasi Sampel**

Ekstrak kasar ascidian *Lissoclinum badium* yang diperoleh dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan metanol 80% sebanyak 100 mL. Setelah larut, dimasukan kedalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL setelah itu dikocok dalam corong pisah sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk lapisan metanol dan lapisan n-heksan, kemudian masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering, lalu ditimbang dan diperoleh fraksi n-heksan. Selanjutnya, lapisan metanol ditambahkan akuades sebanyak 100 mL kemudian dipartisi dengan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1 v/v dalam corong pisah, setelah itu dikocok kembali sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan metanol dan kloroform, kemudian masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang berat sampel dan diperoleh fraksi kloroform. Lapisan metanol kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering, lalu ditimbang dan diperoleh fraksi metanol. Ketiga fraksi yang diperoleh akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

#### **Sterilisasi**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung dan media disterilkan diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Mpila, 2012).

#### **Pembuatan Media Cair B1**

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, dan aquades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian dibuat homogen menggunakan *magnetic stirrer* lalu diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, ukur pH dengan menggunakan kertas pH. Dipipet

1 mL media cair B1, kemudian masukkan dalam tabung reaksi dan tutup dengan aluminium foil. Media cair B1 siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Ortez, 2005).

#### **Pembuatan Kontrol Negatif**

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan pelarut metanol, dengan cara membuat larutan stok metanol dengan mengambil sebanyak 200 µL metanol kemudian di totolkan pada *paper disc* (Lalamentik, 2017).

#### **Pembuatan Kontrol Positif**

Kontrol positif dalam pengujian aktivitas antibakteri ini menggunakan *kloramfenikol paper disc*.

#### **Kultur Bakteri Uji**

Media cair B1 yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan dengan masing-masing bakteri yang sudah dikultur (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) sebanyak 100 µL kedalam tabung reaksi yang berbeda. Tutup dengan aluminium foil tiap tabung reaksi dan dimasukkan kedalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37 °C (Ortez, 2005).

#### **Pembuatan Larutan Uji**

Larutan uji dibuat dengan cara 25 mg ekstrak kasar ascidian *Lissoclinum badium* kemudian dilarutkan dalam 5 mL metanol sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250 µg/50 µL. Perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol (Ortez, 2005).

#### **Pembuatan Media Agar B1**

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, agar 1,5 g dan aquades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian dibuat homogen menggunakan *magnetic stirrer* lalu diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Lakukan pengujian pH dengan kertas pH. Media agar B1 siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Ortez, 2005).

#### **Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Pada pengujian aktivitas antibakteri ini, cakram (*paper disc*) yang digunakan berukuran 6 mm dengan daya serap 50 µL tiap cakram. Sampel yang telah ditentukan konsentrasinya (250 µg/50 µL) ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Untuk media agar B1 yang sudah diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian dinginkan sampai suhu 40 °C. Tuangkan media agar B1 ke cawan petri, Ambil

sebanyak 100 µL bakteri yang telah di kultur dalam tabung reaksi, dipipet dan diinokulasi pada media agar B1 dan tunggu sampai media agar B1 mengeras. Masing-masing cawan petri diberi label dan nomor sampel yang sesuai. Letakkan kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji ascidian *Lissoclinum badium* dengan pinset kedalam cawan petri lalu diinkubasi selama 1x24 jam (Ortez, 2005).

### **Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Bening**

Pengamatan dapat dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diukur diameter zona bening horizontal ditambahkan dengan diameter zona bening vertikal lalu dibagi dua. Diameter  $\leq 5$  mm memiliki kekuatan daya hambat lemah, 6-10 mm daya hambat sedang, 11-20 mm daya hambat kuat dan  $\geq 21$  mm daya hambat sangat kuat (Susanto, dkk, 2012). Media cair B1 yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan dengan masing-masing bakteri yang sudah dikultur (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) sebanyak 100 µL kedalam tabung reaksi yang berbeda. Tutup dengan

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Ekstraksi dan Fraksinasi**

Sampel ascidian *Lissoclinum badium* yang diambil dari Pulau Mantehage Manado dipotong dengan ukuran kecil, hal ini dikarenakan semakin kecil luas permukaan sampel maka akan semakin mudah pelarut untuk masuk kedalam sampel dan kemudian terjadi interaksi sehingga senyawa yang ditarik oleh pelarut semakin banyak (Sineke *et al*, 2016).

Setelah itu dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena peralatan yang digunakan dan cara pengerjaannya yang cukup sederhana, serta mudah untuk mengekstrak komponen-komponen yang tidak tahan terhadap suhu tinggi (Kristiani, 2014).

Ekstraksi sampel dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95 %. Hal

ini dikarenakan pelarut etanol memiliki tingkat polaritas yang lebar mulai dari senyawa non polar sampai dengan senyawa polar, sedangkan konsentrasi 95% merupakan konsentrasi yang tinggi sehingga memungkinkan pelarut untuk menarik senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel dengan kuat. Pelarut etanol juga memiliki sifat toksisitas rendah sehingga tidak merusak sampel (Saifudin *et al*, 2011).

Ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan selama 3x24 jam, dan setiap 24 jam ekstrak disaring dan dimaserasi kembali dengan pelarut yang baru, hal ini dapat disebut juga remaserasi. Remaserasi ini dilakukan agar senyawa aktif yang terdapat pada sampel dapat ditarik secara baik dan optimum (Huliselan *et al*, 2015). Filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi kemudian dievaporasi menggunakan evaporator pada suhu 40°C, karena suhu pada derajat ini tidak dapat merusak senyawa-senyawa aktif pada sampel.

Setelah ekstrak kental diperoleh dari proses evaporasi, maka tahap selanjutnya dilakukan proses fraksinasi. Metode partisi cair-cair adalah metode fraksinasi yang digunakan dalam proses ini. Metode fraksinasi ini merupakan metode pemisahan dengan menggunakan pelarut yang tidak saling bercampur sehingga senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, senyawa yang bersifat non polar akan larut ke dalam pelarut non polar, dan senyawa yang bersifat semi polar akan larut ke dalam pelarut semi polar (Harborne, 1998).

Sampel ascidian *Lissoclinum badium* yang diekstraksi dengan metode maserasi dievaporasi dan diperoleh ekstrak kasar etanol 0,77 gram. Kemudian diambil sebanyak 0,15 gram untuk fraksinasi. Hasil randemen ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Setelah dilakukan pengujian antibakteri ekstrak dan fraksi ascidian *Lissoclinum badium* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh hasil yang dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 1.** Randemen fraksi ascidian *Lissoclinum badium*

No	Sampel	Berat (g)	Randemen (%)	Warna
1	Ekstrak Etanol	0,77	1,28	Coklat pekat
2	Fraksi n-Heksan	0,20	133	Putih kekuningan
3	Fraksi Kloroform	0,20	133	Cream
4	Fraksi Metanol	0,34	226	Coklat

**Tabel 2.** Hasil pengukuran diameter zona bening ekstrak dan fraksi ascidian *Lissoclinum badium* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. **Ket:** C+ = Kontrol positif, C- = Kontrol negative, Ec = Bakteri *Escherichia coli*, Sa = *Staphylococcus aureus*,  $\Sigma$  = Total pengukuran,  $\bar{X}$  = Rata-rata pengukuran

	EtOH	ChCl3	n-Hxn	MeOH	C+	C-
<b>Ec</b>	12,23	-	-	16,29	<b>21,7</b>	
	13,06	-	-	18,48		
	12,12	-	-	19,29		
$\Sigma$	37,41	-	-	54,06		
$\bar{X}$	12,47	-	-	18,02		
<b>Sa</b>	7,55	7,72	7,10	13,50	<b>18,96</b>	-
	6,90	7,24	7,09	12,83		
	7,09	7,24	6,95	13,34		
	$\Sigma$	21,54	22,2	21,14		
$\bar{X}$	7,18	7,4	7,04	13,22		

### UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Metode difusi agar merupakan metode yang dilakukan dengan pengukuran dan pengamatan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram yang berisi zat antibakteri yang diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi bakteri (Lalamentik, 2017). Metode difusi agar ini dipilih karena dapat digunakan untuk melihat sensitivitas berbagai jenis bakteri terhadap antibakteri pada konsentrasi tertentu, juga metode ini lebih mudah untuk dikerjakan dan peralatannya mudah didapatkan (Akhyar, 2010).

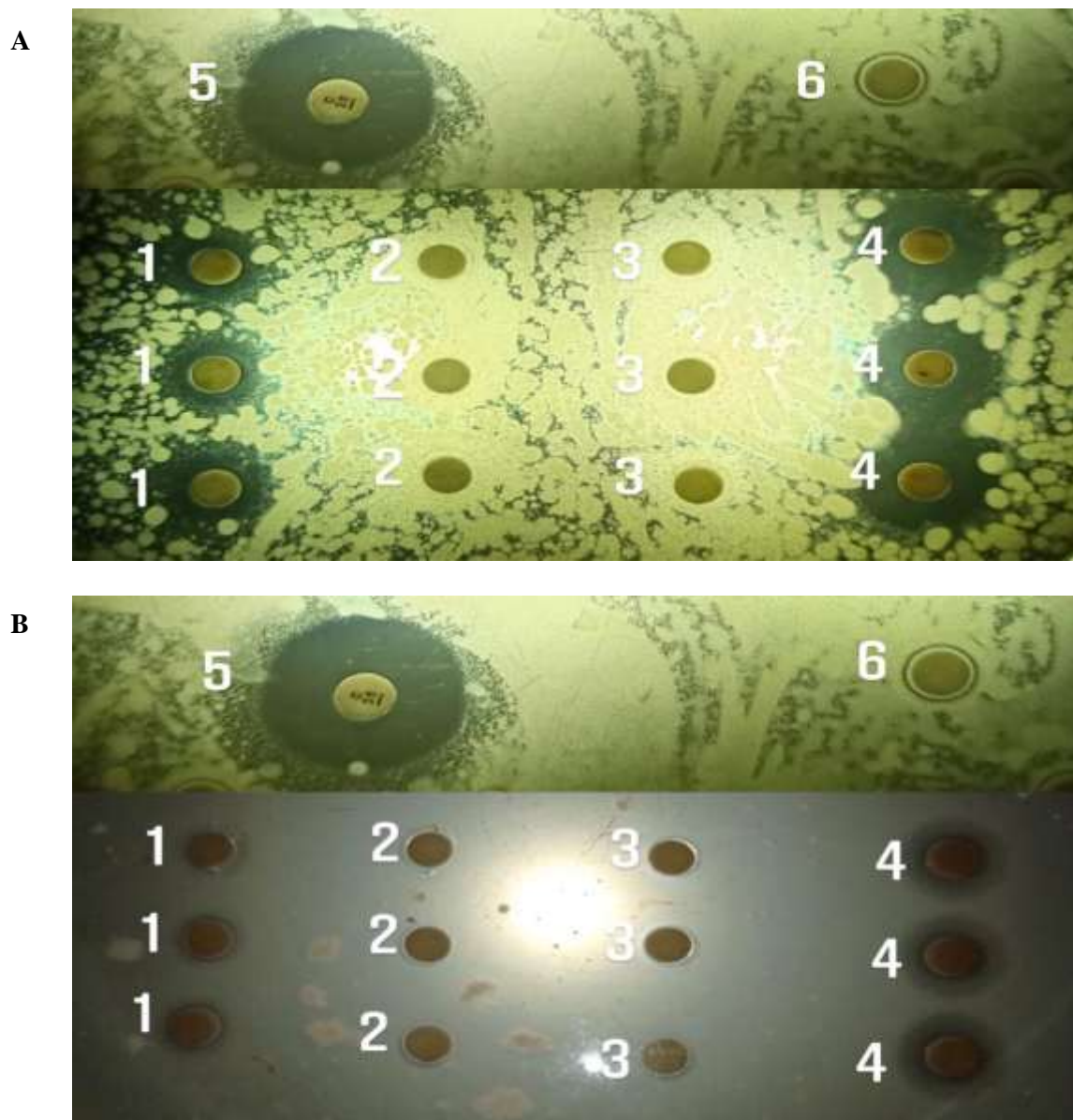
Bakteri yang digunakan dalam pengujian ini adalah *Staphylococcus aureus* untuk mewakili bakteri Gram positif dan *Escherichia coli* untuk mewakili bakteri Gram negatif. Tujuan penggunaan dua jenis bakteri ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak/fraksi dari ascidian

*Lissoclinum badium* memiliki aktivitas antibakteri, juga untuk mengetahui berapa kisaran atau spektrum yang dihasilkan dari aktivitas antibakteri ascidian *Lissoclinum badium*, apakah sampel ini berada pada spektrum sempit yang hanya mampu menghambat atau membunuh satu golongan bakteri saja, atau berada pada spektrum luas yang mampu menghambat atau membunuh lebih dari satu golongan bakteri baik itu golongan Gram positif maupun Gram negatif (Pratiwi, 2008).

Pengujian ini, daya antibakteri dilihat dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram yang berukuran 6 mm, hal ini menunjukkan adanya kepekaan bakteri terhadap ekstrak dan fraksi dari *Lissoclinum Badium*. 250 µg adalah konsentrasi ekstrak dan fraksi yang digunakan pada setiap *paper disc* dengan daya serap 50 µL. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam, dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pada

masing-masing bakteri. Suhu 37°C yang digunakan pada proses inkubasi tersebut menyesuaikan dengan suhu tubuh manusia, dimana dua jenis bakteri dalam pengujian ini bertahan hidup dalam tubuh

manusia. Kemudian untuk pengulangan sebanyak 3 kali pada masing-masing bakteri bertujuan untuk lebih mengakuratkan hasil yang diperoleh.



**Gambar 5.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak dan Fraksi ascidian *Lissoclinum badium* : (A). *Escherichia coli*, (B). *Staphylococcus aureus*. **Ket** : (1) Ekstrak Etanol, (2) Fraksi Kloroform, (3) Fraksi n-Heksan, (4) Fraksi Metanol, (5) Kontrol Positif, (6) Kontrol Negatif

Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan sebagai pembanding dalam pengujian ini. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol, hal ini disebabkan karena kloramfenikol memiliki spektrum kerja yang luas (Rachmawati, 2015). Hasil yang diperoleh dari kontrol positif kloramfenikol menunjukkan diameter zona hambat paling besar (21,7 mm) dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi sampel ascidian *Lissoclinum badium*.

Kontrol negatif yang digunakan dalam pengujian ini adalah metanol, hal ini dikarenakan pelarut yang digunakan untuk melarutkan larutan uji adalah metanol. Hasil yang diperoleh dari kontrol negatif yaitu tidak memiliki daya hambat antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sehingga diketahui bahwa aktivitas yang ditimbulkan dari ekstrak dan fraksi sampel ascidian *Lissoclinum badium* adalah murni dari senyawa aktif yang terkandung dari dalam sampel.

Hasil yang diperoleh dari ekstrak etanol, menunjukkan bahwa diameter zona bening yang terbentuk pada *Escherichia coli* termasuk dalam kategori kuat (12,47 mm) , sedangkan untuk *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kategori sedang (7,18 mm). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* serta *Staphylococcus aureus* dengan spectrum kerja yang luas.

Fraksi kloroform menunjukkan bahwa diameter zona bening yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas antibakteri yang sedang (7,4 mm), sedangkan untuk bakteri *Escherichia coli* tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Hal ini berarti bahwa fraksi kloroform memiliki senyawa aktif yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* saja dengan spektrum kerja yang sempit, karena hanya mampu menghambat pertumbuhan satu jenis bakteri yakni bakteri Gram positif dan tidak menunjukkan aktivitas antibakteri pada bakteri Gram negatif.

Fraksi n-heksan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri melalui diameter zona bening yang ditimbulkan pada *Staphylococcus aureus* dengan kekuatan sedang (7,04 mm), sedangkan pada *Escherichia coli*, tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki senyawa aktif yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif. Hal ini

mengartikan bahwa senyawa aktif dalam fraksi n-heksan memiliki spectrum kerja yang sempit.

Fraksi methanol menunjukkan bahwa diameter zona bening yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli* memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat kuat (18,02 mm). Begitu pula dengan bakteri *Staphylococcus aureus* yang menunjukkan aktivitas antibakteri dengan daya hambat yang kuat (13,22 mm) Hal ini menunjukkan bahwa fraksi metanol memiliki senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kerja spectrum yang luas.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi metanol memiliki aktivitas menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan untuk fraksi kloroform dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* saja . Selain itu, bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* lebih sensitif terhadap ekstrak dan fraksi sampel ascidian *Lissoclinum badium*, hal ini dikarenakan struktur dinding sel dari bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Kumayas *et al*, 2015).

*Escherichia coli* hanya mampu bekerja pada senyawa-senyawa polar yakni fraksi etanol dan metanol. Hasil pengukuran rata-rata diameter daya antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi metanol dan fraksi n-heksan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada Table 2.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol dan fraksi metanol dari sampel ascidian *Lissoclinum badium* yang diperoleh dari Pulau Mantehage Manado memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat kuat. Sedangkan untuk Fraksi kloroform dan fraksifraksi n-heksan memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* saja dengan daya hambat yang sedang yaitu 6-10 mm.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjut terhadap ascidian *Lissoclinum badium*, dengan uji bakteri yang berbeda dan dengan metode pengujian yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhyar, 2010. *Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau ( Rhizophora stylosa Griff.) Terhadap Vibrio Harveyi*. [skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Brammavidhya, S. and Usharani, G. 2013. *Bioactive Potential of Sponge Associated Bacillus Cereus Sbs02 Isolated from Hyattela cribriformis*. ISSN 2249–9695. *International Journal of Research in Environmental Science and Technology*. 3(2):International Journal of Research in Environmental Science and Technology. 3(2): 61-64
- Dahuri, R. 2003. *Keanekaragaman Hayati Laut: Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Harborne, J.B. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Third Edition. UK : Chapman & Hall.
- Kristiani, V. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Waktu Maserasi Terhadap Perolehan Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung*. [Skripsi]. Fakultas Teknik Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Kumayas, A. R., et al. 2015. Aktifitas Antibakteri dan Karakteristik Gugus Fungsi dari Tunikata *Polycarpa aurata*. *Pharmacoon*. 4: (1), 32-44.
- Lalamentik, G. 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak Klyxum sp. yang Diperoleh dari Teluk Manado*. [Skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mpila, D. A. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (Coleus atropurpureus benth) Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli dan Pseudomas aeruginosa Secara Invitro*. [Skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology.
- Oda, T., Kamoshita, K., Maruyama, S., Mashuda, K., Nishimoto, M., Xu, J., Ukay, K., Mangindaan, R.E.P., and Namikoshi, M. 2007. *Cytotoxicity of Lissoclibaldins and Liiso- clinotoxins, Isolated from a Tropical Ascidian Lissoclinum cf badium, against Human Solid- Tumor Derived Celllines*. *Biol. Pharm. Bull* 30 (2).
- Rajasekar, T., Balaji, S., Kumaran, S., Deivasigamani, B., Pugzhavendhan, S.R. 2012. *Isolation and Characterization of Marine Fungal Metabolites against Clinical Pathogens*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. Elsevier. S387-S392
- Rachmawaty, D. U. 2016. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (Zea mays ssaccharata Sturt) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Saifudin, A., et al. Teruna. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sineke, F. U., et al. 2016. Penentuan Kandungan Fenolik dan Sun Protection Factor (SPF) dari Ekstrak Etanol dari Beberapa Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Pharmacoon*. 5: (1), 275-283.
- Sumilat, D.A., Wewengkang, D.S., Rotinsulu, H., Yamazaki, H., Oda, T., Ukai, K., Sarker, Namikoshi, M. 2018. *Bioactivity of extracts from ascidians collected in North Sulawesi as seeds of marinederived drugs*. *AACL Bioflux*. 11(2): 516-524.
- Wagey, B.T. 2017. *Morphometric analysis of congeneric seagrasses (Cymodocea Oda, T., rotundata and Cymodocea serrulata) in the coastal areas of Bunaken National.Park, North Sulawesi, Indonesia*. *AACL Bioflux*, 10(6):1638-1646