

PENAPISAN (SKRINING) AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA EKSTRAK SPONS DARI TELUK MANADO

(*Antibacterial Activities Screening of Some Sponge Extracts From Manado Bay*)

Edgar Nowin^{1*}, Veibe Warouw¹, Joice R. T. S. L. Rimper¹, James J. H. Paulus¹, Henneke Pangkey², Deiske A. Sumilat¹

1. Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.
2. Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

*e-mail : edgarakay@gmail.com

Sponges are one of the most prospective marine biotas as a source of natural materials such as peptides, terpenoids, steroids, acetogenins, alkaloids, cyclic halides, and other nitrogen compounds. These compounds have pharmacological activity such as antifouling, antitumor, anti-inflammatory, antiviral, antibacterial, antifungal, and antimalarial. There were twelve sponges collected and have been extracted from Manado Gulf, North Sulawesi. Screening of the antibacterial activities have done by using a modified Kirby and Bauer method. The extraction of samples conducted using ethanol solvent then evaporated with rotary vacuum evaporator, 9.442 grams of sample extracts were gained. The twelve screened extracts obtained were 10.6 mm (extract 1), 7.4 mm (extract 4) and (10.6 mm) of extract 9 which had antibacterial activity against *Bacillus megaterium* bacteria on bacterial media *Escherichia coli* only extract 1 (8, 9 mm) which could inhibit the bacterial growth. Positive controls used as comparison had much greater activity against *B. megaterium* and *E. coli* antibacterial components present in sponge extracts collected from Manado Bay are classified as medium/moderate compounds.

Keywords: Sponges, Antibacterial, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*

Spons merupakan salah satu biota laut yang sangat prospektif sebagai sumber senyawa bahan-bahan alami seperti peptida, terpenoid, steroid, asetogenin, alkaloid, halida siklik, dan senyawa nitrogen lainnya. Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas farmakologis seperti antifouling, antitumor, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antijamur, antimalaria. Telah diekstrak dua belas spons yang dikoleksi dari Teluk Manado, Sulawesi Utara. Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode Kirby-Bauer yang dimodifikasi. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dari koleksi beberapa ekstrak spons sebanyak 9,442 gram melalui proses maserasi dengan pelarut etanol dan evaporasi. Kedua belas ekstrak yang diskринing didapatkan 10,6 mm (ekstrak 1), 7,4 mm (ekstrak 4) dan (10,6 mm) ekstrak 9 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus megaterium* sedangkan pada media bakteri *Escherichia coli* hanya ekstrak 1 (8,9 mm) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kontrol positif sebagai pembanding memiliki aktivitas yang jauh lebih besar terhadap bakteri *B. megaterium* dan *E. coli* sehingga senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak spons yang dikoleksi dari Teluk Manado digolongkan sebagai senyawa yang bersifat sedang/moderate.

Kata kunci: Spons, Antibakteri, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Perairan laut Indonesia merupakan sumber senyawa bioaktif yang sangat melimpah untuk dikembangkan sebagai senyawa pemandu (*lead compound*) dalam sintesis obat-obatan baru (Lee *et al.*, 2001; Nursid *et al.*, 2006). *Escherichia coli* merupakan contoh bakteri yang

resisten terhadap beberapa jenis antibiotik. *Multi Drugs Resistance* (MDR) adalah istilah bagi suatu bakteri yang resisten terhadap lebih dari 3 jenis antibiotik. *Bacillus megaterium* adalah suatu organisme yang tidak berbentuk filament, bakteri Gram positif, berbentuk batang, menghasilkan endospora, katalase positif, aerobik, nitrit negatif dan VP negatif (Hadieotomo, 1985).

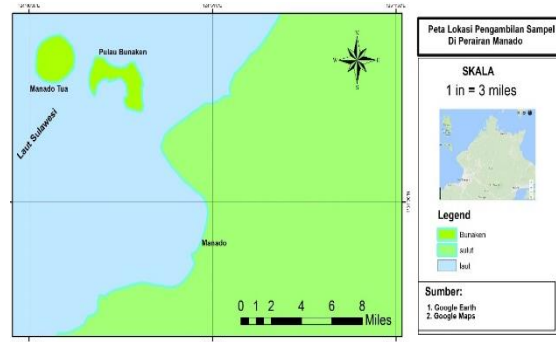
Antibakteri adalah zat atau senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan bahkan dapat mematikan bakteri dengan cara merusak metabolisme mikroba (Schunack *et al.*, 1990; Madigan, 2005).

Spons saat ini telah menjadi perhatian utama dalam berbagai riset mengenai senyawa bioaktif antibakteri yang dikandungnya (Undap *et al.*, 2017; Ngantung *et al.*, 2016; Wewengkang *et al.*, 2014; Bara, 2007). Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas farmakologis seperti antifouling, antitumor, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antijamur, antimalarial. Beberapa tahun terakhir telah ditemukan senyawa-senyawa dari spons (Bara, 2007; Rompas, 2011; Rahman *et al.*, 2014; Blunt *et al.*, 2015). Spons memiliki potensi senyawa bioaktif terbesar di antara invertebrata laut lainnya (Ginting *et al.*, 2010). Berbagai substansi bioaktif telah berhasil ditemukan seperti antibakteri dari spons yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri (Mangindaan *et al.*, 1997). Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan beberapa ekstrak spons dan menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak spons dari Teluk Manado. Sumilat (2017) telah meneliti bioaktivitas spons laut yang berasal dari salah satu Perairan di Teluk Manado.

METODE PENELITIAN

Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Teluk Manado (Gambar 1), ekstraksi dan skrining antibakteri dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado.



Gambar 1. Peta Pengambilan Sampel

Sterilisasi Alat dan Media

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini seperti cawan petri, tabung reaksi, scalpel, gunting dan pinset dicuci bersih, dikeringkan, dibungkus kemudian disterilkan dalam oven pada suhu 150°C selama \pm 2 jam (sterilisasi kering). Media untuk pertumbuhan mikroorganisme disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (sterilisasi basah).

Pembuatan Media B1 dan Preparasi Bakteri

1. Media Cair B1

Pembuatan media cair B1 untuk kultur bakteri (*B. Megaterium* dan *E.coli*) dengan menggunakan bahan pepton 0,5 gram, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 gram, natrium klorida (NaCl) 0,3 gram. Bahan yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah berisikan aquades/dH₂O sebanyak 100 ml, kemudian dibuat homogen lalu ditutup dan dibungkus menggunakan aluminium foil dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 15 menit.

2. Media Padat B1

Pembuatan media padat menggunakan bahan pepton 1 gram, daging (*meat extract*) 0,6 gram, natrium klorida (NaCl) 0,6 gram, agar 6 gram. Bahan yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang

sudah berisi aquades aquades/dH₂O sebanyak 200 ml. Media dibuat sebanyak dua untuk kedua bakteri dan di sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 15 menit.

Pembuatan Konsentrasi Sampel

Penelitian ini menggunakan konsentrasi 100 mg/ml dan diencerkan dengan pelarut metanol 100% menggunakan mikropipet.

Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Spons

Skrining antibakteri beberapa ekstrak spons pada penelitian ini menggunakan konsentrasi dari tiap ekstrak kasar sampel spons sebanyak 100 mg/ml dan diambil 50 μ l menggunakan mikropipet dan ditotolkan pada setiap kertas cakram dan dimasukkan ke dalam wadah steril yang telah diberi tanda (Wikler *et al.*, 2009). Setelah itu kertas cakram dikeluarkan satu persatu dari wadah dan diletakkan di atas media padat B1. Skrining antibakteri yang dilakukan pada penelitian ini dengan menggunakan metode (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Metode ini dikembangkan sejak tahun 1961. Metode ini banyak digunakan untuk menguji sensitivitas suatu antibiotik terhadap bakteri tertentu (Fall, 2011).

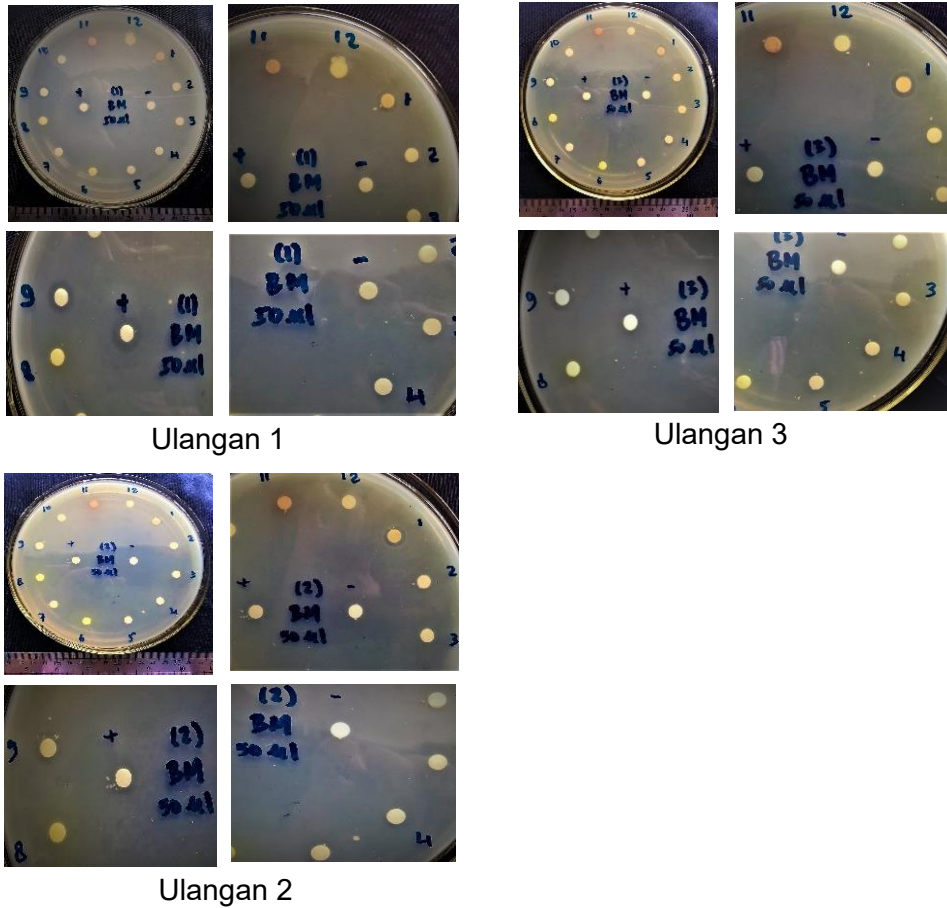
Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat

Setelah pentotolan pada kertas cakram yang telah diletakkan pada media padat, kemudian aktivitas antibakteri dari masing-masing ekstrak spons diukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar ekstrak spons dengan menggunakan penggaris dalam satuan (mm) dan diamati zona hambat ekstrak spons pada bakteri *E. coli* dan *B. megaterium*. Pengamatan dilakukan setelah 1 x 24 Jam untuk melihat sifat antibakteri dari tiap ekstrak spons.

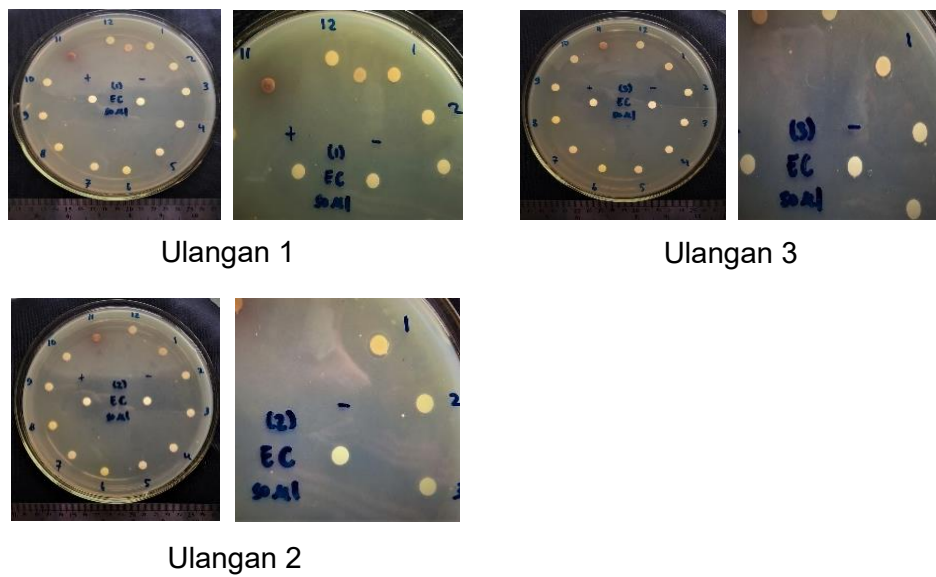
HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi morfologi dengan cara membandingkan warna, bentuk, dan ciri dari dua belas spons yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan panduan dari Colin dan Arneson (1995); Hooper dan Van Soest (2002). Setelah pengamatan selama 1 x 24 masa inkubasi dengan 3 kali pengulangan didapatkan aktivitas antibakteri dari ekstrak 1, 4, dan 9 terhadap bakteri *B. megaterium* sedangkan pada bakteri *E. coli* hanya ekstrak spons 1 yang menunjukkan aktivitas antibakteri (Gambar 2 dan 3).

Spons yang didapatkan seperti *Liosina* sp. dan *Clathria* sp. telah diteliti sebelumnya oleh Setyowati *et al.*, (2007) mendapatkan bioaktivitas antimikroba yang diujikan pada bakteri *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*. Spons *Halichondria* sp. memiliki aktivitas antikanker seperti yang dinyatakan Wirmandiyanthi (2013) bahwa senyawa yang diisolasi dari spons *Halichondria okadai* terbukti aktif melawan leukemia. *Leucetta* sp. yang berasal dari Perairan Pulau Menjangan Bali Barat yang diteliti oleh Martiningsih (2013) mengandung senyawa alkaloid yang memberikan pengaruh sitotoksik. Trianto *et al.*, (2004) menganalisa dari fraksi *Isis* sp. memiliki aktivitas *Plakortis* sp. yang di koleksi dari Perairan Pulau Bunaken telah di teliti oleh Pasodung *et al.*, (2017), terbukti senyawa bioaktivitas spons *Plakortis* sp. memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat antibakteri.



Gambar 2. Aktivitas antibakteri beberapa ekstrak spons pada media bakteri *Bacillus megaterium* (Dokumentasi pribadi, 2018).



Gambar 3. Aktivitas antibakteri beberapa ekstrak spons pada media bakteri *Escherichia coli* (Dokumentasi pribadi, 2018).

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat dari beberapa ekstrak spons terhadap bakteri *Bacillus megaterium*

Ekstrak spons	Berat kering (gram)	<i>Bacillus megaterium</i> Zona hambat (mm)			Rerata
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
1	0,509	10,7	10,5	10,7	10,6
2	2,644	-	-	-	-
3	0,240	-	-	-	-
4	0,376	7,7	7	7,7	7,4
5	1,164	-	-	-	-
6	1,195	-	-	-	-
7	0,377	-	-	-	-
8	1,105	-	-	-	-
9	0,874	11,2	10,2	10,5	10,6
10	0,207	-	-	-	-
11	0,271	-	-	-	-
12	0,480	-	-	-	-
Kloramfenikol (+)	-	14,5	12,2	12,7	13
Metanol (-)	-	-	-	-	-

Keterangan :

Konsentrasi kontrol positif	= 250 mg/ml
Diameter kertas cakram	= 6 mm
Daya serap kertas cakram	= 100 µl
Banyaknya ekstrak dalam kertas cakram	= 50 µl
Konsentrasi sampel dalam kertas cakram	= 100ml/mg

Melalui data yang ditampilkan pada Tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa setelah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari beberapa ekstrak spons terhadap bakteri uji *B. megaterium* dan *E. coli* maka didapatkan diameter zona hambat yang bervariasi. Dibandingkan dengan kontrol positif (kloramfenikol) bahwa senyawa dari ekstrak spons mempunyai zona hambat yang lebih rendah. Sedangkan pada media bakteri *E. coli* hanya ekstrak spons 1 (8,9 mm) yang memperlihatkan zona hambat. Kontrol

positif sebagai pembanding memiliki aktivitas yang jauh lebih besar terhadap bakteri *E. coli* sehingga senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak spons yang dikoleksi dari Teluk Manado digolongkan sebagai senyawa yang bersifat sedang/moderate (Patel *et al.*, 2014).

Skринing ekstrak spons pada penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas beberapa ekstrak spons yang berpotensi membunuh bakteri *B. megaterium* dan *E. coli*.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat dari beberapa ekstrak spons terhadap bakteri *Escherichia coli*

Ekstrak spons	Berat kering (gram)	<i>Escherichia coli</i> Zona hambat (mm)			
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rerata
1	0,509	8,2	9,7	9	8,9
2	2,644	-	-	-	-
3	0,240	-	-	-	-
4	0,376	-	-	-	-
5	1,164	-	-	-	-
6	1,195	-	-	-	-
7	0,377	-	-	-	-
8	1,105	-	-	-	-
9	0,874	-	-	-	-
10	0,207	-	-	-	-
11	0,271	-	-	-	-
12	0,480	-	-	-	-
Kloramfenikol (+)	-	30,7	30,5	30,2	30,4
Metanol (-)	-	-	-	-	-

Keterangan :

Kosentrasi kontrol positif	= 250 mg/ml
Diameter kertas cakram	= 6 mm
Daya serap kertas cakram	= 100 µl
Banyaknya ekstrak dalam kertas cakram	= 50 µl
Konsetrasi sampel dalam kertas cakram	= 100ml/mg

Skrining ekstrak spons pada penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas beberapa ekstrak spons yang berpotensi membunuh bakteri *B. megaterium* dan *E. coli*. Pada penelitian ini tampak bahwa kloramfenikol lebih efisien dalam menghambat pertumbuhan bakteri *B. megaterium* dan *E. coli*. Hal ini dikarenakan tepatnya konsentrasi senyawa dalam obat tersebut, sedangkan kemampuan senyawa yang dihasilkan dari spons belum diketahui (Patel et al., 2014). Kloramfenikol digunakan dalam

penelitian ini sebagai tolak ukur untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak spons.

Kontrol negatif berfungsi untuk memperlihatkan apakah media tercemar atau tidak. Kontrol negatif menunjukkan perbedaan terhadap kontrol positif maupun ekstrak sampel uji. Dalam penelitian ini, kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat pada skrining antibakteri terhadap bakteri *B. megaterium* dan bakteri *E. coli*.

KESIMPULAN

Beberapa ekstrak spons berhasil diperoleh sebanyak 9,442 gram melalui proses maserasi dengan pelarut etanol dan evaporasi. Ekstrak spons dari Teluk Manado memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *B. megaterium* dengan diameter 10,6 mm (Ekstrak 1), 7,4 mm (Ekstrak 4), 10,6 mm (Ekstrak 9). Kemudian pada bakteri *E. coli* dengan diameter zona hambat 8,9 mm (Ekstrak 1).

DAFTAR PUSTAKA

- Bara, R. 2007. *Study metabolic rate and metabolism in the spongs Haliclona oculata using different 13C labeled substrates*. Thesis. Wageningen University, Netherlands. p 47.
- Blunt, J. W., Copp, B., Keyzers, R., Munro, R. A., Prinsep, M. H. G. 2015. *Marine natural products*. Nat. Prod. Rep. 32. DOI : 10.1039/c4np00144c. pp. 116–211.
- Colin, P.L., Arneson A.Ch.. 1995. *Tropical Pacific Invertebrates : A Field Guide to the Marine Invertebrates Occurring on Tropical Pacific Coral Reefs, Seagrass Beds and Mangroves*. Mybar Printing Inc. America. p 305.
- Fall, 2011. *Kirby-Bauer Procedure*. Jackie Reynolds, Richland College. pp. 114-116.
- Ginting, E. L., Warouw V., Suleman R. W. 2010. Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kasar Bakteri yang Berasosiasi dengan Sponge *Acanthostrongylophora Sp.*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. ISSN: 2302-6081. 6(3):160-163.
- Hadioetomo, R.S. 1985. *Mikrobiologi Dasar-dasar Praktik*. Gramedia. Jakarta.
- Hooper, J.N.A dan Van Soest, R.W.M. 2002. *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Kluwer Academic Plenum. Publishers New York. p 1778.
- Lee, K. Y., Lee, H. J., Lee, H. K. 2001. *Microbial Symbiosis in Marine Sponges*. *The Journal of Microbiology*. 39(4):254-264.
- Madigan, M. 2005. *Brock Biology of Microorganism*. London. p 753.
- 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.
- Martiningsih, N. W. 2013. *Skrining Awal Ekstrak Etil Asetat Spons Leucetta sp. Sebagai Antikanker dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Fakultas MIPA Universitas Pendidikan Ganesha. Jurusan Analis Kimia. 382 hal.
- Ngantung, A.E.C., Bara, R., Sumilat, D.A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dari Spons *Dictyonella funicularis* dan *Phyllospongia lamellosa* yang diambil pada Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. ISSN: 2339-1537. 2(1):10–16.
- Nursid, D., Marraskuranto, E. 2007. Aktivitas Sitotoksik, Induksi Apoptosis dan Ekspresi Gen p53 Fraksi Metanol Spons *Petrosia nigricans* terhadap Sel Tumor Hela. *Jurnal Pascapanen dan*

- Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(2):103-109.
- Pasodung, A. 2017. *Uji Aktivitas Antibakteri Spons Plakortis sp. yang dikoleksi dari Perairan Bunaken*. Skripsi. Program Studi Ilmu Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado. 47 hal.
- Patel, J. B., Cockerill, F. R., Alder, J., Bradford, P. A., Eliopoulos, G. M., Hardy, D. J., Hindler, J. A., Jenkins, S. G., Lewis, J. S., Miller, L. A., Powell, M., Swenson J. M., Traczewski, M. M., Turnidge, J. D., Weinstein, M. P., Zimmer, B. L. 2014. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement*. Vol. 34. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Rahman, H. 2014. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Spons Petrosia alfiani dari Kepulauan Barrang Lompo*. Skripsi. FMIPA UNHAS, Makassar.
- Rompas, R. 2011. *Farmakognosi Laut (Sumber Baru Ekonomi Kelautan)*. Dewan Kelautan Indonesia, Jakarta.
- Setyowati, P. E., Umar A. J., Sudarsono, Broto K., Rachmaniar R. 2007. Toksisitas dan Aktivitas Anti-Mikroba Ekstrak Etanol Bunga Karang dari Perairan Pulau Tabuhan Banyuwangi dan Pulau Menjangan Bali Barat. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Jurnal Perikanan*. ISSN: 2502-5066 9 (2).
- Schunack, W., Mayer, K., Haake, M. 1990. *Senyawa Obat*. Universitas Gadjah Mada . 894 hal.
- Sumilat, A. D. 2017. Aktivitas Spons Laut *Lamellodysidea herbacea* dari Perairan Malalayang. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. ISSN: 2407-6074. 4(1):1-7.
- Trianto, A., Has Y. Y., Ambariyanto A., Murwani R. Uji Toksisitas Ekstrak Gorgo Gorgonian *Isis hippuris* terhadap Nauplius *Artemia salina*. Universitas Diponegoro. *Indonesia journal of Marine Science*. ISSN: 2406-7598. 9 (2): 61-63.
- Undap, N.I.J., Sumilat, D.A., Bara, R. 2017. Aktivitas Antibakteri Spons *Agelas tubulata* dan *Phyllospongia* sp. dari Perairan Pantai Malalayang Manado Terhadap Pertumbuhan Beberapa Strain Bakteri. *Jurnal Ilmu dan Manajemen Perairan*. ISSN: 2337-5000. 5 (1).
- 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: 2407-6074. 1(1):71–85.
- Wikler, M. A., Cockeril F. R., Bush K., Dudley M. N., Eliopoulos J. M., Hardy D. J., Hecht D. W. 2009. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard 10th Edition*. Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania, USA.
- Wirmandiyanthi D. K., Manurung M., Swantara I. M. D. 2013. Uji

Toksisitas dan Identifikasi
Ekstrak *Haliclona fascigera*
Terhadap Larva *Artemia*
salina L. *Jurnal Perikanan dan*
Kelautan. Program Magister Kimia
Terapan, Universitas Udayana.
Bali. ISSN: 2302-7274. 1.