

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI N-HEKSANA, METANOL DAN AIR DARI ASCIDIAN *Lissoclinum* sp.

(*Antibacterial Activity Assay of n-Hexane, Methanol, Water Fraction from Ascidian *Lissoclinum* sp.*)

Samuel L. Opa<sup>1\*</sup>, Robert A. Bara<sup>1</sup>, Grevo S. Gerung<sup>1</sup>, Rizald M. Rompas<sup>1</sup>,  
Rosita A.J. Lintang<sup>1</sup>, Deiske A. Sumilat<sup>1</sup>

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

\*e-mail : samueloppa@gmail.com

Ascidians are marine invertebrates known to produce bioactive compounds such as antibacterials. The aims of this research is to determine the effectiveness of n-hexane, methanol, and water fractions from ethanolic extract ascidian *Lissoclinum* sp. as an antibacterial to 2 species of Gram-positive bacteria *Staphylococcus saprophyticus* and *Bacillus megaterium* and 2 species of Gram-negative bacteria namely *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherechia coli*. The extraction begins with 3 times sample maceration using 95% ethanol for and then the filtrate obtained is evaporated with a Rotary vacuum evaporator. The extract obtained was fractionated by partition method using n-hexane, methanol, and water. The antibacterial activity assay method used was agar diffusion (disc diffusion Kirby and Bauer) which have been modified. The results obtained were obtained antibacterial activity of the water fraction and antibacterial activity was shown to the four assay bacteria and explained the antibacterial compound is broad spectrum.

**Keywords:** ascidian, *Lissoclinum* sp., antibacterial, partition.

Ascidian adalah avertebrata laut yang diketahui memproduksi senyawa bioaktif seperti antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas fraksi n-heksana, metanol, dan air dari ekstrak etanolik ascidian *Lissoclinum* sp. sebagai antibakteri terhadap 2 spesies bakteri Gram positif *Staphylococcus saprophyticus* dan *Bacillus megaterium* serta 2 spesies bakteri Gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherechia coli*. Ekstraksi diawali dengan Maserasi sampel menggunakan etanol 95% selama tiga kali dan kemudian filtrat yang didapatkan dievaporasi dengan *Rotary vacuum evaporator*. Ekstrak yang didapatkan difraksinasi dengan metode Partisi menggunakan pelarut n-Heksana, metanol, dan air. Metode Pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan adalah difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*) yang telah dimodifikasi. Hasil yang diperoleh yaitu didapatkan aktivitas antibakteri dari fraksi air dan aktivitas antibakterinya ditunjukkan terhadap keempat bakteri uji dan menjelaskan senyawa antibakteri tersebut berspektrum luas.

**Kata kunci:** ascidian, *Lissoclinum* sp., antibakteri, partisi.

### PENDAHULUAN

Keanekaragaman organisme laut Indonesia yang sangat tinggi memiliki potensi untuk menyokong perekonomian negara, contohnya Perairan Bunaken yang menjadi sumber penghasilan andalan pemerintah Sulawesi Utara (Wagey, 2017). Keanekaragaman organisme (*biodiversity*) laut juga mempunyai arti keanekaragaman senyawa kimia (*chemodiversity*) yang terkandung dalam organisme. Senyawa-senyawa tersebut dapat memiliki aktivitas biologis yang

bervariasi. Bahan alam laut berupa senyawa-senyawa kimia tersebut berpotensi dikembangkan sebagai bahan obat (Dahuri, 2003). Diketahui bahwa beberapa biota laut dapat menghasilkan bahan hayati yang memiliki aktivitas biologis di antaranya yaitu bryozoa (Sima dan Vetvicka, 2011), moluska (Kiran *et al.*, 2014), spons (Ngantung *et al.*, 2016, Luissandy *et al.*, 2017, Pasodung *et al.*, 2018, Nowin *et al.*, 2018), karang lunak (Kawung *et al.*, 2017) dan ascidian (Ali andTamilselvi, 2016).

Ascidian adalah avertebrata laut yang digolongkan dalam filum Chordata, sub-filum Tunikata atau juga dikenal sebagai Urochordata dari kelas Ascidiacea. Ascidian terdapat hampir di seluruh laut di dunia. Namun, ascidian umumnya terdapat di perairan litoral pada zona intertidal hingga subtidal, menempel pada karang, cangkang moluska, lambung kapal, atau pada dasar pasir dan lumpur (Shenkar and Loya, 2008; Ompi, 2016).

Senyawa bioaktif yang disintesis oleh ascidian merupakan metabolit sekunder, yaitu metabolit turunan secara biosintetik dari metabolit primer yang digunakan dalam sistem pertahanan diri, yaitu 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). Diketahui dari ascidian sudah ditemukan berbagai senyawa dengan bioaktivitas seperti larvasida (Rumengan, 2010; Mangindaan dan Taroreh, 2013; Moerid *et al.*, 2013), antikanker/antitumor (Nakamura *et al.*, 2013; Sumilat *et al.*, 2014; Wewengkang *et al.*, 2014; Sumilat *et al.*, 2017; Tatsuta *et al.*, 2017; Urda *et al.*, 2017), antidiabetes (Li, 2012), antiinflamasi (Chan *et al.*, 2011), antivirus (Donie *et al.*, 2008), dan antibakteri (Wang *et al.*, 2008). Pencarian senyawa antibakteri dari ascidian perlu dilakukan untuk mendapatkan obat antibakteri baru, mengingat telah begitu

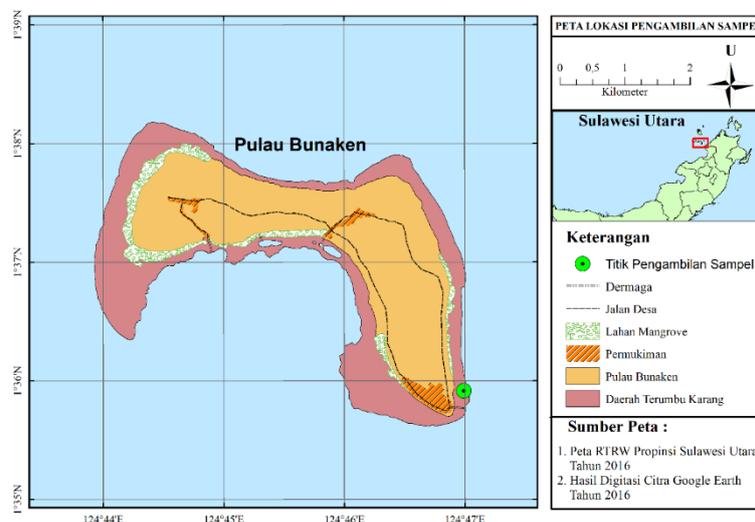
banyak infeksi dan penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

Pencarian senyawa bioaktif dari ascidian di beberapa perairan di Indonesia sudah dilakukan, namun masih banyak lokasi di Indonesia yang belum tersentuh. Perairan Pangalisang Bunaken merupakan wilayah perairan yang memiliki areal terumbu karang yang baik sehingga tidak diragukan lagi wilayah ini memiliki keanekaragaman organisme laut. Namun sayang sekali bahwa usaha yang dilakukan untuk mengeksplorasi dan mengeksploitasi bahan-bahan aktif dari biota laut tersebut masih sangat sedikit. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian mengenai biota laut khususnya ascidian dalam upaya pemanfaatan senyawa bioaktif yang nantinya dapat dijadikan bahan baku pembuat bahan farmasi.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Rangkaian Penelitian dimulai pada Maret 2018 dan berakhir pada April 2018. Tempat Penelitian yaitu Perairan Pangalisang Pulau Bunaken (Gambar 1) sebagai lokasi pengambilan sampel selanjutnya yaitu Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado di mana dilakukan proses ekstraksi, partisi dan pengujian aktivitas antibakteri



Gambar 1. Peta Pengambilan Sampel

### **Pengambilan dan Identifikasi Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan pada kedalaman air 5-7 meter menggunakan alat bantu satu set alat *snorkeling* dan sebuah pisau. Setelah diambil dilakukan identifikasi sampel. Pengidentifikasi sampel ascidian dilakukan dengan melihat bentuk, warna, dan struktur spons. Identifikasi dilakukan dengan dipandu buku pedoman Colin dan Arneson (1995).

### **Alat dan Bahan**

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain autoklaf, 1 set *rotary vacuum evaporator*, *laminar air flow*, corong pisah, statif, corong kaca, kertas saring, mikropipet, kertas cakram, timbangan analitik, erlenmeyer, cawan petri, *aluminium foil*, mistar.

Bahan yang digunakan adalah agar, pepton, natrium klorida (NaCl), ekstrak daging (*meat extract*), kloramfenikol, etanol 95%, metanol, n-Heksana, etil asetat, air dan sampel ascidian *Lissoclinum* sp.

### **Sterilisasi Alat Dan Bahan**

Peralatan kaca seperti cawan petri dan erlenmeyer dicuci bersih dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas aluminium foil dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 160° selama kurang lebih dari 2 jam atau diatutoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian untuk media cair dan padat B1, semua bahan dimasukkan dalam gelas erlenmeyer lalu ditutup dengan *aluminium foil* kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

### **Ekstraksi Ascidian**

Sampel ascidian *Lissoclinum* sp. dimaserasi bertahap selama 3 kali dalam larutan etanol selama 24 jam selanjutnya untuk mendapatkan filtrat disaring menggunakan kertas cakram *whattman* dan kemudian filtrat dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40° hingga etanol ter-evaporasi sempurna dan tersisa ekstrak kasar. Kemudian ekstrak kasar diambil menggunakan spatula dan dimasukkan ke dalam botol ekstrak.

### **Penyiapan Peralatan dan Larutan Partisi**

Disiapkan 4 gelas erlenmeyer dan dimasukkan masing-masing aquades 200 ml, etanol 200 ml, etil asetat 200 ml, n-heksana 200 ml kemudian seluruh erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*. Setelah seluruh larutan sudah siap dipakai, peralatan seperti corong pisah dan statif diambil dan kemudian corong pisah diletakkan pada bagian penahan dari statif. Selanjutnya 4 buah erlenmeyer disiapkan untuk menampung fraksi.

### **Partisi**

Setelah semua pelarut dan peralatan selesai disiapkan, ekstrak etanol *Lissoclinum* sp. yang telah dievaporasi dan diperoleh ekstrak etanolnya diambil sebanyak 15 g dan dimasukkan ke dalam corong pisah yang berisi aquades sebanyak 200 ml dan etil asetat sebanyak 200 ml. Kemudian corong pisah diambil dari statif dan dikocok-kocok hingga tercampur ekstrak etanol dan kedua pelarut partisi. Setelah itu dikembalikan lagi ditempatkan pada statif sekitar 5 menit. Lapisan air diambil dengan membuka keran pada corong pisah serta penutup corong pisah. Fraksi air ditampung pada erlenmeyer 250 ml hingga semua lapisan air terambil lalu keran segera ditutup agar tidak ada fraksi etil asetat yang ikut terambil. Selanjutnya fraksi etil asetat juga ditampung pada erlenmeyer 250 ml. Kedua fraksi yang didapatkan yakni fraksi air dan fraksi etil asetat dievaporasi dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Proses evaporasi untuk fraksi air membutuhkan waktu yang cukup lama dibandingkan waktu untuk mengevaporasi fraksi etil asetat dikarenakan evaporasi dilakukan pada suhu 40°C untuk menjaga keadaan senyawa yang terkandung pada setiap fraksi agar tidak rusak dan air merupakan pelarut yang susah menguap pada tingkatan suhu seperti ini.

Selanjutnya fraksi etil asetat dipartisi kembali menggunakan metanol sebanyak 200 ml dan n-heksana sebanyak 200 ml. Labu evaporasi yang berisikan hasil evaporasi fraksi etil asetat ditambahkan metanol secukupnya setelah itu dituang ke dalam corong pisah. Selanjutnya dituang keseluruhan metanol

dan n-heksana untuk partisi. Kemudian corong pisah diangkat dari statif dan dikocok-kocok sekitar 1 menit dan kembali ditempatkan pada statif seperti sebelumnya sampai terlihat kedua pelarut terpisah. Lapisan metanol diambil dengan membuka keran pada corong pisah serta penutup corong pisah. Fraksi metanol ditampung pada erlenmeyer 250 ml hingga semua lapisan air terambil lalu keran segera ditutup agar tidak ada fraksi n-heksana yang ikut terambil. Selanjutnya fraksi n-heksana diambil dengan membuka keran pada corong pisah dan penutup corong pisah. Fraksi n-heksana ditampung pada erlenmeyer 250 ml juga. Kedua fraksi ini dievaporasi dan kemudian akan diambil menggunakan spatula dan dipindahkan ke botol sampel kecil bersamaan dengan fraksi air yang sudah dievaporasi terlebih dahulu. Selanjutnya ketiga fraksi ditimbang menggunakan timbangan analitik.

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

Media Cair B1 untuk kultur bakteri dilakukan menggunakan 4 erlenmeyer untuk keempat bakteri uji. Bahan-bahan yang digunakan ditimbang hingga tertakar 0,25 g pepton, 0,15 g NaCl dan 0,15 g ekstrak daging dan dimasukkan ke tiap erlenmeyer lalu dimasukkan aquades sebanyak 50 ml. Keempat erlenmeyer yang telah berisikan bahan diaduk hingga homogen lalu ditutup dengan *aluminium foil*, kemudian keempat erlenmeyer dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### **Kultur Bakteri**

Setelah media cair B1 sudah selesai disterilasi, keempat erlenmeyer diberi label dan dibawa ke *laminar air flow*. Kemudian masing-masing bakteri diambil dari dalam tabung reaksi dan dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer menggunakan jarum ose. Jarum ose harus dibakar pada lampu bunsen sebelum mengambil bakteri yang lain dan setelah pemakaian. Setelah itu masing-masing erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil* dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu ruang.

#### **Pembuatan Kontrol**

Kontrol positif dibuat dari 500 mg kloramfenikol yang dilarutkan dalam 3 ml aquades (200.000 ppm). Sedangkan kontrol negatif menggunakan pelarut metanol.

#### **Pembuatan Media Padat B1**

Media padat B1 untuk kultur bakteri dilakukan menggunakan 4 erlenmeyer untuk keempat bakteri uji. Bahan-bahan yang digunakan ditimbang hingga tertakar 1,5 g agar, 0,50 g pepton, 0,15 g NaCl dan 0,15 g ekstrak daging dan dimasukkan ke tiap erlenmeyer lalu dimasukkan aquades sebanyak 100 ml. Keempat erlenmeyer yang telah berisikan bahan diaduk hingga homogen lalu ditutup dengan *aluminium foil*, kemudian keempat erlenmeyer dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

#### **Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Pengujian antibakteri Fraksi n-Heksana, Metanol, dan air dari ekstrak ascidian *Lissoclinum* sp. pada penelitian ini menggunakan konsentrasi dari tiap Fraksi yaitu 200 mg/ml (200.000 ppm) dan diambil 50 µl menggunakan mikropipet untuk ditotolkan pada setiap kertas cakram. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer Method*). Pengujian aktivitas antibakteri untuk tiap bakteri dilakukan 3 kali ulangan sekaligus pada 3 cawan petri yang sama.

#### **Pengamatan dan Pengukuran**

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Hasil data pengukuran yang diperoleh berupa diameter zona bening dari setiap fraksi ekstrak sampel spons diukur menggunakan mistar dan dibandingkan dengan zona bening kontrol positif.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Pengambilan dan Identifikasi Sampel**

Sampel yang diperoleh yaitu ascidian *Lissoclinum* sp. (Gambar 2) dengan ciri-ciri seperti lembaran



Gambar 2. Ascidian *Lissoclinum* sp.

bergelombang, menempel di karang, dan berwarna kelabu dengan corak hijau. Berat basah sampel yang diperoleh sebanyak 840 g.

#### Ekstraksi Ascidian *Lissoclinum* sp.

Setelah dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi bertahap sebanyak 3x24 jam. Filtrat yang diperoleh dari keseluruhan proses maserasi, dievaporasi dan didapatkan ekstrak kasar sebanyak 40,5 g.

#### Partisi

Dari ekstrak ascidian yang dipartisi sebanyak 15 g, didapatkan fraksi air sebanyak 1.030 mg, fraksi metanol sebanyak 120 mg dan fraksi n-heksana sebanyak 1.088 mg. Fraksi air dan fraksi n-heksana memiliki berat yang hampir sama dan relatif banyak dibandingkan dengan fraksi metanol. Bisa dijelaskan bahwa senyawa yang bersifat semipolar dari ascidian *Lissoclinum* sp. lebih sedikit dibandingkan dengan senyawa yang bersifat polar dan non polar.

#### Pengujian Aktivitas Antibakteri

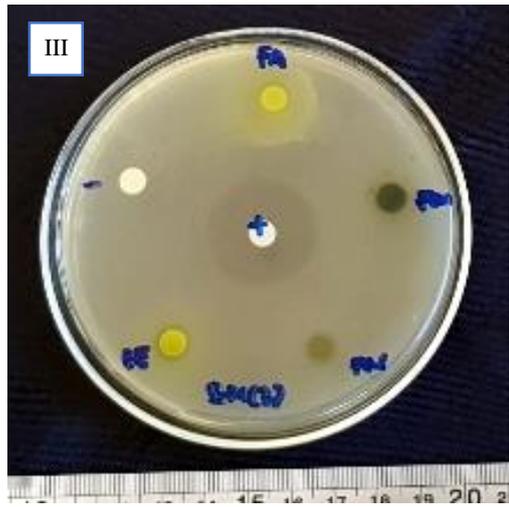
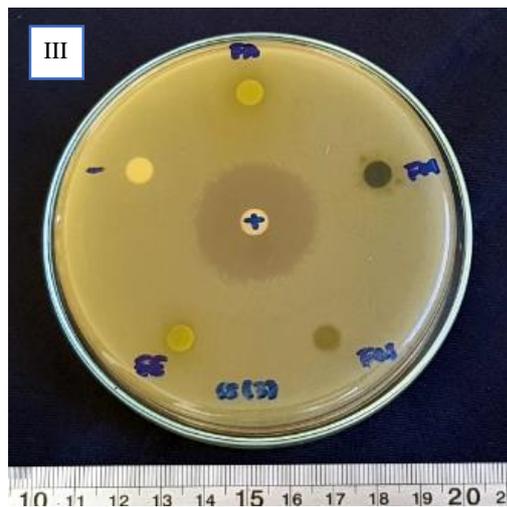
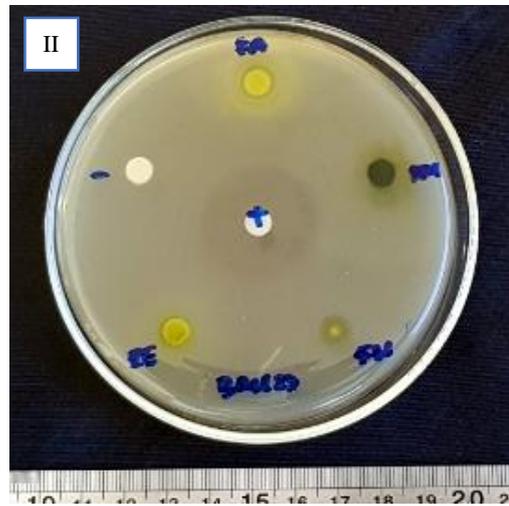
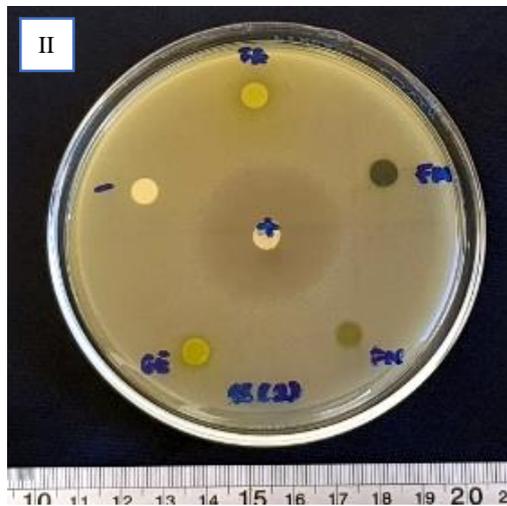
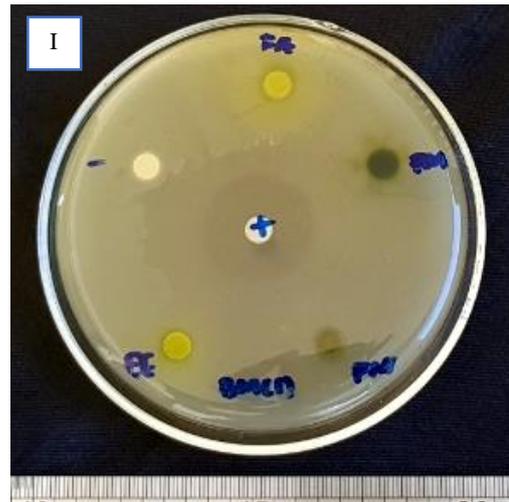
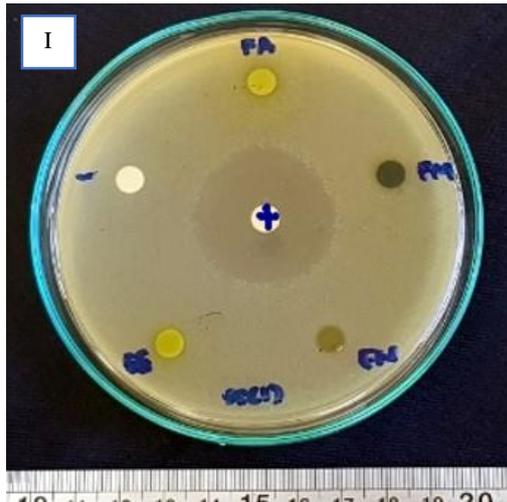
Aktivitas antibakteri dilihat dengan adanya zona hambat yang tampak pada sekitar kertas cakram. Pengamatan dan pengukuran zona hambat menggunakan mistar dilakukan pada media bakteri bakteri *S. saprophyticus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. Hasilnya pada media bakteri *S. saprophyticus* (Gambar 3) pada ketiga ulangan hanya fraksi air, fraksi metanol, ekstrak etanol dan kontrol positif yang menunjukkan zona hambat (*inhibitory zone*). Fraksi air menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (8,00 mm), ulangan II (8,00 mm), dan ulangan III (8,00

mm). Fraksi metanol menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (7,50 mm), ulangan II (7,50 mm) dan ulangan III (7,50 mm). Kemudian ekstrak etanol menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (7,00 mm), ulangan II (7,00 mm) dan ulangan III (7,00 mm). Selanjutnya kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (29,50 mm), ulangan II (29,00 mm) dan ulangan III (28,00 mm).

Pada media bakteri *B. megaterium* (Gambar 4) pada ketiga ulangan hanya fraksi air dan kontrol positif yang menunjukkan zona hambat (*inhibitory zone*). Fraksi air menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (8,00 mm), ulangan II (8,00 mm), dan ulangan III (8,00 mm). Selanjutnya kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (24,00 mm), ulangan II (25,00 mm) dan ulangan III (24,50 mm).

Pada media bakteri *P. aeruginosa* (Gambar 5) pada ketiga ulangan hanya fraksi air, ekstrak etanol, dan kontrol positif yang menunjukkan zona hambat (*inhibitory zone*). Fraksi air menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (7,00 mm), ulangan II (7,00 mm), dan ulangan III 7,00 mm). Kemudian ekstrak etanol menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (6,50 mm), ulangan II (6,50 mm) dan ulangan III (6,50 mm). Selanjutnya kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (26,00 mm), ulangan II (26,00 mm) dan ulangan III (26,50 mm).

Pada media bakteri *E. coli* (Gambar 6) pada ketiga ulangan hanya fraksi air, ekstrak etanol, dan kontrol positif yang menunjukkan zona hambat (*inhibitory zone*). Fraksi air menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (8,00 mm), ulangan II (8,00 mm), dan ulangan III 8,00 mm). Kemudian ekstrak etanol menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (7,00 mm), ulangan II (6,50 mm) dan ulangan III (7,00 mm). Selanjutnya kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (19,00 mm), ulangan II (19,50 mm) dan ulangan III (19,50 mm). Kemudian keseluruhan data dirata-ratakan dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 7.



Gambar 3. Hasil pengujian antibakteri pada media bakteri *S. saprophyticus*

Gambar 4. Hasil pengujian antibakteri pada media bakteri *B. megaterium*.

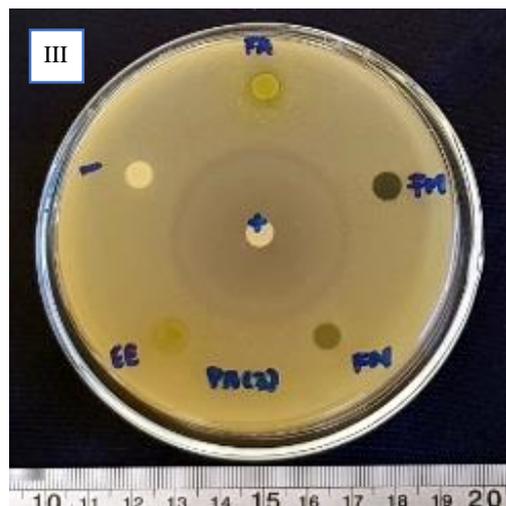
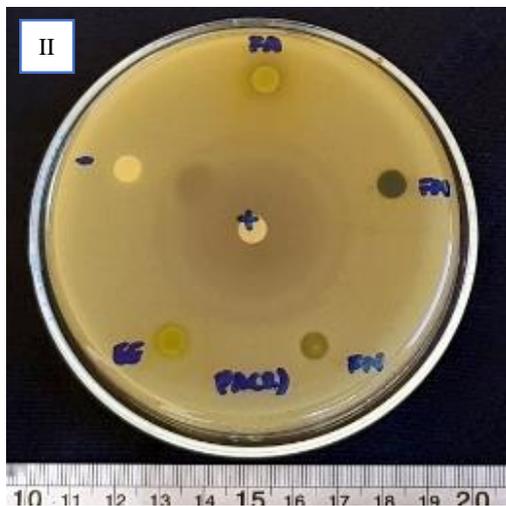
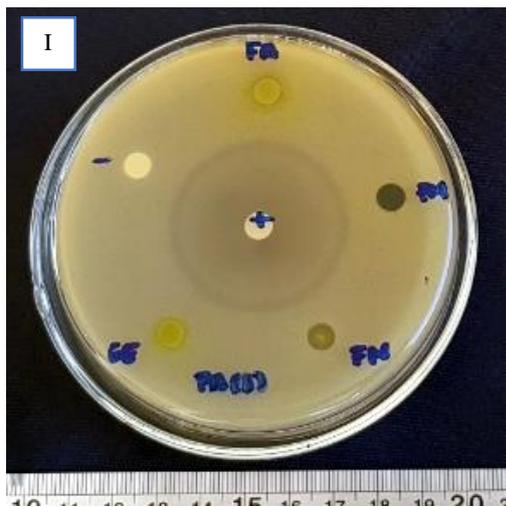
Keterangan:

(FA) - Fraksi air (EE) - Fraksi air  
 (FM) - Fraksi metanol (+) - Kloramfenikol  
 (FN) - Fraksi n-heksana (-) - Etanol

Keterangan:

(FA) - Fraksi air (EE) - Fraksi air  
 (FM) - Fraksi metanol (+) - Kloramfenikol

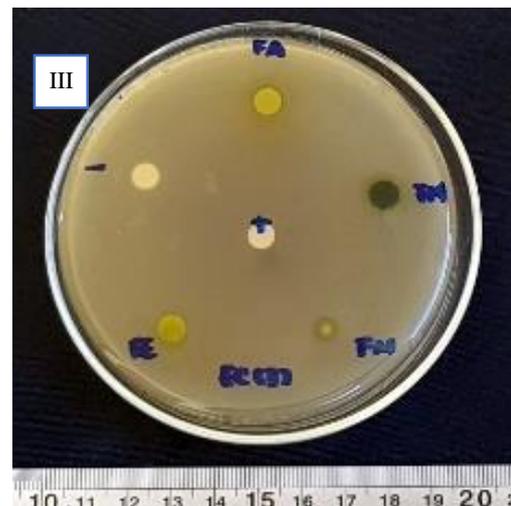
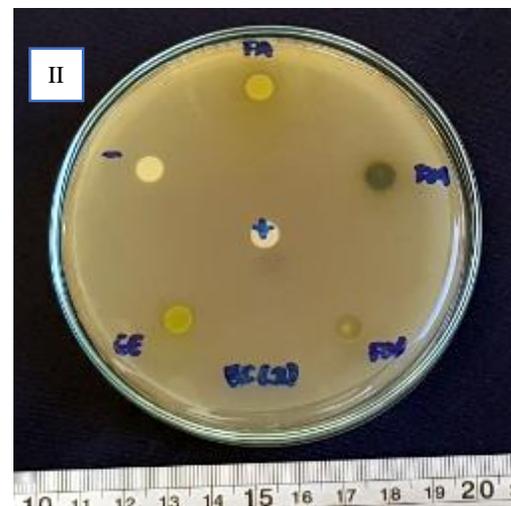
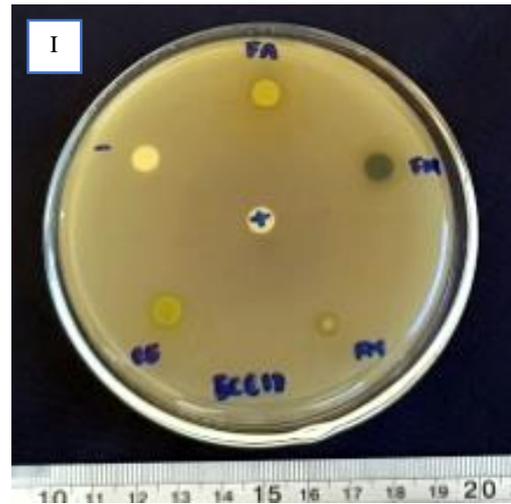
(FN) - Fraksi n-heksana (-) - Etanol



Gambar 5. Hasil pengujian antibakteri pada media bakteri *P. aeruginosa*

Keterangan:

- (FA) - Fraksi air
- (FM) - Fraksi metanol
- (FN) - Fraksi n-heksana
- (EE) - Fraksi air
- (+) - Kloramfenikol
- (-) - Etanol



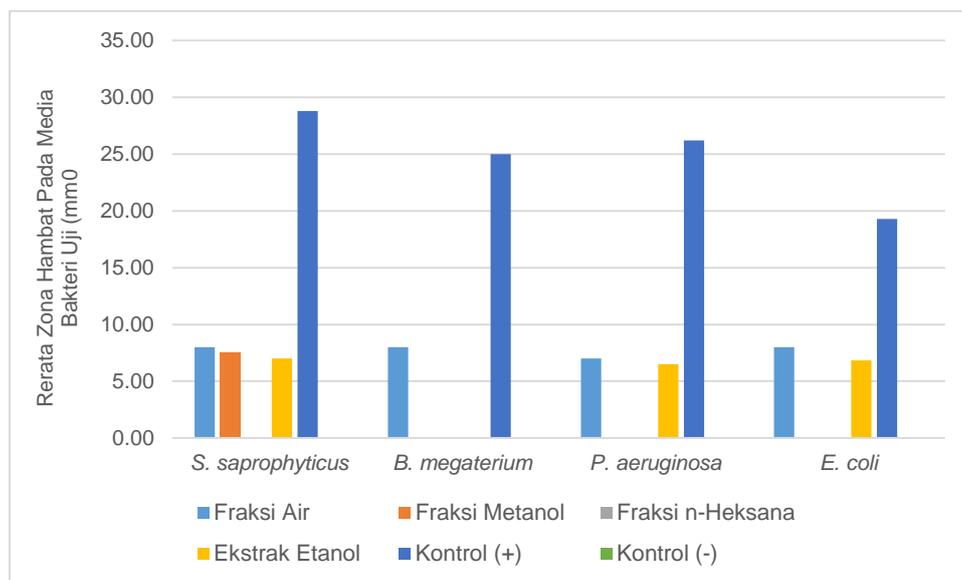
Gambar 6. Hasil pengujian antibakteri pada media bakteri *E. coli*

Keterangan:

- (FA) - Fraksi air
- (FM) - Fraksi metanol
- (FN) - Fraksi n-heksana
- (EE) - Fraksi air
- (+) - Kloramfenikol
- (-) - Etanol

Tabel 1. Rerata zona hambat ketiga fraksi, ekstrak etanol dan kontrol terhadap pertumbuhan bakteri *S. saprophyticus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *E. Coli*..

Bahan Uji	Rerata Zona Hambat Pada Media (mm)			
	<i>S. saprophyticus</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Fraksi Air	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00
Fraksi Metanol	7,50 ± 0,00	-	-	-
Fraksi n-Heksana	-	-	-	-
Ekstrak Etanol	7,00 ± 0,00	-	6,50 ± 0,00	6,30 ± 0,29
Kontrol (+)	28,80 ± 0,00	24,50 ± 0,50	26,20 ± 0,29	19,30 ± 0,29
Kontrol (-)	-	-	-	-



Gambar 7. Grafik rerata zona hambat ketiga fraksi, ekstrak etanol dan kontrol terhadap pertumbuhan bakteri *S. saprophyticus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *E. coli*.

Menurut Davis and Stout (1971) dalam Wewengkan *et al.* (2014) penggolongan kriteria kekuatan suatu bahan antibakteri, yakni diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, dan zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, sedangkan diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan bahkan yang melebihi dari 20 mm dikategorikan sangat kuat. Dari Tabel 1 dapat dijelaskan bahwa fraksi air memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan keempat bakteri uji yaitu bakteri *S. saprophyticus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat 8,00 ± 0,00 mm (tergolong sedang) pada bakteri *S. saprophyticus*, 8,00 ± 0,00 mm (tergolong sedang) pada bakteri *B.*

*megaterium*, 7,00 ± 0,00 mm (tergolong sedang) pada bakteri *P. aeruginosa*, dan 8,00 ± 0,00 mm (tergolong sedang) pada bakteri *E. coli*. Selanjutnya fraksi metanol hanya memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. saprophyticus* dengan zona hambat yang ditunjukkan 7,50 ± 0,00 mm (tergolong sedang). Pada fraksi n-heksana tidak memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan keempat bakteri uji yaitu bakteri *S. saprophyticus*, *B. megaterium*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. Hal ini dikarenakan fraksi n-heksana tidak menunjukkan zona hambat pada keempat media bakteri uji dari data yang diperoleh. Pada ekstrak etanol menunjukkan adanya daya hambat pada ketiga bakteri uji yaitu *S. saprophyticus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. Daya hambat yang ditunjukkan lebih lemah

dibandingkan dengan yang ditunjukkan fraksi air, yaitu  $7,00 \pm 0,00$  mm (tergolong sedang) pada bakteri *S. saprophyticus*,  $6,50 \pm 0,00$  mm (tergolong sedang) pada bakteri *P. aeruginosa*, dan  $6,30 \pm 0,29$  mm (tergolong sedang) pada bakteri *E. coli*. Menurut Pelczar dan Chan (1986) dalam Kumayas *et al.* (2015) seperti terlihat pada Tabel 4, uji aktivitas antibakteri fraksi metanol cenderung tidak dapat menghambat pertumbuhan pada bakteri Gram negatif *P. aeruginosa* dan *E. coli*, tetapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *S. saprophyticus*, respon yang berbeda dari kedua golongan bakteri terhadap senyawa ini dikarenakan adanya perbedaan kepekaan Gram positif dan bakteri Gram negatif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam fraksi metanol. Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri daripada bakteri Gram negatif.

Dari hasil yang ditunjukkan di atas daya hambat bakteri dikarenakan struktur dari dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana hingga lebih mudahlah senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasarannya, sedangkan struktur dinding sel dari bakteri Gram negatif lebih kompak dan padat dan terdiri atas 3 lapisan salah satunya yaitu peptidoglikan (Posangi dan Bara, 2014; Bara *et al.*, 2015). Sehingga daya hambat bakteri yang terjadi lebih kuat pada bakteri golongan Gram positif.

Pada penelitian yang telah dilakukan tampak bahwa kontrol positif kloramfenikol jauh lebih efisien untuk menghambat pertumbuhan keempat bakteri uji yaitu *S. saprophyticus* ( $28,80 \pm 0,00$  mm), *B. megaterium* ( $24,50 \pm 0,50$ ), *P. aeruginosa* ( $26,20 \pm 0,29$ ), dan *E. coli* ( $19,30 \pm 0,29$ ). Faktor yang mempengaruhi hal di atas karena *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) kloramfenikol telah diketahui konsentrasi paling tepat untuk menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri serta telah diketahui bahwa kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas, sedangkan untuk kemampuan senyawa antibakteri dari ascidian belum diketahui (Patel *et al.*, 2014).

Kontrol negatif yang dalam penelitian ini etanol 95% menunjukkan perbedaan terhadap kontrol positif maupun Fraksi sampel uji. Pada penelitian ini kontrol negatif berfungsi untuk melihat media yang digunakan tercemar atau tidak. Kontrol tersebut menunjukkan tidak adanya zona hambat pada pengujian antibakteri terhadap bakteri Gram positif *S. saprophyticus* dan *B. megaterium* juga terhadap bakteri Gram negatif *P. aeruginosa* dan *E. coli*. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh pada uji bioaktivitas antibakteri sampel, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa aktif yang terdapat pada ascidian *Lissoclinum* sp. baik pada fraksi maupun ekstrak etanol.

Selanjutnya dari hasil pengujian antibakteri didapatkan bahwa senyawa antibakteri dari ascidian *Lissoclinum* sp. bersifat polar dikarenakan hasil yang ditunjukkan yaitu hanya fraksi polar yakni fraksi air yang konstan dapat menghambat pertumbuhan keempat bakteri uji. Dibandingkan dengan hasil penelitian Kumayas *et al.* (2015), dari ascidian *Polycarpa aurata* didapatkan senyawa antibakteri bersifat semipolar dikarenakan hasil yang diperoleh hanya fraksi semipolar yakni fraksi kloroform yang konstan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

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 baik hanya pada bakteri Gram positif ataupun hanya pada bakteri Gram negatif (WHO, 2014). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa antibakteri dari ascidian *Lissoclinum* sp. yang terdapat pada fraksi air tergolong berspektrum luas dikarenakan kemampuannya menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hal ini diduga bahwa di alam ascidian memproduksi senyawa antibakteri dalam

bentuk metabolit sekunder untuk melawan semua ancaman yang dihadapinya.

Hasil pengujian antibakteri juga menunjukkan bahwa senyawa antibakteri dari ascidian *Lissoclinum* sp. tergolong sedang. Hal ini bisa dihubungkan dengan produksi senyawa metabolit sekundernya juga saat di alam. Energi yang banyak diperlukan untuk memproduksi senyawa dalam jumlah banyak (Rinehart, 1992). Oleh karena itu, bisa saja ascidian *Lissoclinum* sp. hanya memproduksi senyawa antibakterinya dalam jumlah sedikit. Selain itu, tekanan lingkungannya juga berpengaruh dalam hal produksi metabolit sekunder antibakteri dari ascidian *Lissoclinum* sp., apabila tekanan lingkungannya relatif rendah maka senyawa yang akan dihasilkan juga pasti sedikit. Kemudian apabila tekanan lingkungannya relatif tinggi maka senyawa yang dihasilkan akan banyak (Rinehart, 1992). Bisa dikatakan dari hasil penelitian ini ascidian *Lissoclinum* sp. yang dijadikan sampel hidup pada areal dengan tekanan lingkungan yang rendah sehingga memproduksi senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri yang sedang.

### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa Pertama ekstrak ascidian *Lissoclinum* sp. berhasil diperoleh sebanyak 40,5 gram melalui proses maserasi 3x dengan pelarut etanol 95% dan evaporasi. Kedua, pemisahan ekstrak etanol ascidian *Lissoclinum* sp. menjadi beberapa fraksi dengan teknik partisi menghasilkan 3 fraksi, yaitu fraksi air sebanyak 1.030 mg, fraksi metanol sebanyak 120 mg, dan fraksi n-heksana sebanyak 1.088 mg. Ketiga, pengujian antibakteri menunjukkan senyawa antibakteri ascidian *Lissoclinum* sp. bersifat polar karena terdapat pada fraksi air dan aktivitas antibakteri ditunjukkan terhadap keempat bakteri uji yang artinya senyawa tersebut berspektrum luas.

### DAFTAR PUSTAKA

Ali, H.A.J., Tamilselvi, M. 2016. *Ascidians in Coastal Water: A Comprehensive Inventory of*

*Ascidian Fauna from the Indian Coast*. Springer International Publishing. Switzerland.

- Bara, R.A., Kandou, G.D., Ola, A.R.B., Posangi, J. 2015. Analisis Senyawa Antibiotik dari Jamur Symbion yang Terdapat Dalam Ascidiens *Didemnum molle* di Sekitar Perairan Bunaken Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 2(2):7-8.
- Chan, S.T.S., Pearce, A.N., Januario, A.H., Page, M.J., Kaiser, M., McLaughlin, R.J., Harper, J.L., Webb, V.L., Barker, D., Copp, B.R. 2011. Anti-inflammatory and Antimalarial Meroterpenoids from the New Zealand. *J. Org. Chem.* 76(21): 9151-6
- Colin, P.L., Arneson, A.C. 1995. Tropical Pacific Invertebrates: A Field Guide to the Marine Invertebrates Occuring on Tropical Pacific Coral Reefs, Seagrass Beds and Mangroves. *Coral Reef Press*. Beverly Hills, California. USA.
- Dahuri, R. 2003. Keanekaragaman Hayati Laut: Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia. *Gramedia Pustaka Utama*. Jakarta.
- Donia, M.S., Wang, B., Dunbar, D.C., Densai, P.V., Patny, A., Avery, M., Hamann, M.T. 2008. Mollamides B and C, Cyclic Hexapeptides from the Indonesian Tunicate *Didemnum molle*. *J. Nat. Prod.* 71(6): 941-945.
- Kawung, N.J., Mangindaan, R.E.P., Rompas, R.M., Chasanah, E., Kapoyos, M., Abdjul, B., Januar, H.I., Fajarningsih, D., Sumagando, A. 2017. Cytotoxic Anticancer from New Compound Unsrat-sinularine of Soft Coral *Sinularia* sp. from Bunaken Island, Manado, Indonesia. *Int. J. Drug. Dev & Res.* 9(3):1-4.
- Kiran, N., Siddiqui, G., Khan, A.N., Ibrar, K., Tushar, P. 2014. Extraction and Screening of Bioactive Compounds with Antimicrobial Properties from Selected Species of Mollusk and

- Crustacean. *J. Clin. Cell. Immunol.* 5(1): 1-5.
- Kumayas, A.R., Wewengkang, D.S., Sudewi, S. 2015. Aktifitas Antibakteri dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata *Polycarpa aurata*. *Pharmacol.* 4(1):32-44.
- Li, J.L., Xiao, B., Park, M., Yoo, E.S., Shin, S., Hong, J., Chung, H.Y., Kim, H.S., Jung, J.H. 2012. PPAR- $\gamma$  agonistic metabolites from the ascidian *Herdmania momus*. *J. Nat. Prod.* 75(12): 2082-2087.
- Luisandy, Sumilat, D.A., Lintang, R.A.J. 2017. Bioaktivitas Antibakteri Fraksi ODS Spons *Agelas* sp. dari Perairan Pulau Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* 2(1):22-31.
- Mangindaan, R.E.P., dan Taroreh., R.Y. 2013. Pengujian Aktivitas Larvasida dari Ekstrak Ascidian *Lissoclinum pattela* Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* 3(1): 13-17.
- Moerid. M.S., Mangindaan, R.E.P., Losung, F. 2013. Uji Aktivitas Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti* dari Beberapa Ekstrak Ascidian. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* 1(1): 15-20.
- Nakamura, Y., Kato, H., Nishikawa, T., Iwasaki, N., Suwa, Y., Rotinsulu, H., Losung, F., Maarisit, W., Mangindaan, R.E.P., Morioka, H., Yokosawa, H., Tsukamoto, S. 2013. Siladenoserinols A-L: New Sulfonated Serinol Derivates from a Tunicates as Inhibitors of p53-Hdm2 Interaction. *Org. Let.* 15(2): 322-325.
- Ngantung, A.E.C., Bara, R.A., Sumilat, D.A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dari Spons *Dictyonella funicularis* dan *Phyllospongia lamellosa* yang diambil pada Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* 2(1): 10-16.
- Nowin, E., Warouw, V., Rimper, J.R.T.S.L., Paulus, J.J.H., Pangkey, H., Sumilat, D.A. 2018. Penapisan (Skirining) Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak Spons dari Teluk Manado. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* 1(1):21-32.
- Ompi, M. 2016. *Larva Avertebrata Dasar Laut: Ekologi dan Tingkah Laku Larva*. Deepublish. Yogyakarta. 137 hal.
- Pasodung, A.P., Losung, F., Angkouw, E.D., Lintang, R., Mantiri, D.M.H., Sumilat, D.A. 2018. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(1):44-51.
- Posangi, J. dan Bara, R.A. 2014. Analisis Aktivitas Dari Jamur Endofit Yang Terdapat Dalam Tumbuhan Bakau *Avicennia marina* di Tasik Ria Minahasa. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis.* 1(1):6-7.
- Rinehart, K.L. 1992. Secondary metabolites from marine organisms. *Ciba. Found. Symp.* 171:236-49.
- Rumengan, A.P. 2010. Uji Larvasida Nyamuk (*Aedes aegypti*) dari Ascidian (*Didemnum molle*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan.* 6(2):83-86.
- Shenkar, N. dan Loya, Y. 2008. Ecology and systematics of the ascidian fauna in the Gulf of Eilat (Aqaba). In: F.D. Por (Eds.), *Aqaba-Eilat, the Improbable Gulf. Environment, Biodiversity and Preservation* (p. 235-237). Jerusalem: Magnes Press.
- Sima, P. dan Vetvicka, V. 2011. Bioactive substances with anti-neoplastic efficacy from marine invertebrates: *Bryozoa, Mollusca, Echinodermata and Urochordata*. *World. J. Clin. Oncol.* 2(11):362-366.
- Sumilat, D.A., Wewengkang, D.S., Paruntu, C.P., Rumampuk, N.D.C., Rotinsulu, H. 2014. Cytotoxic Activity of Ascidian *Eudistoma* sp. From Mantehage Island Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi.* 1(1):86-89.
- Sumilat, D.A., Wewengkang, D.S., Paruntu, C.P., Rotinsulu, H. 2017.

- Inhibitory Activities of Ascidian *Herdmania momus* on the Colony Formation of Chinese Hamster V79 Cells, collected in Manado North Sulawesi, Indonesia. *Jurnal of Asean Studies and Maritime Issues*. 3 (5):13-19.
- Sumilat, D.A., Wewengkang, D.S., Rotinsulu, H., Yamazaki, H., Oda, T., Ukai, K., Namikoshi, M. Bioactivity of extracts from ascidians collected in North Sulawesi as seeds of marine-derived drugs. *AACL Bioflux*. 11(2): 516-524.
- Tatsuta, T., Hosono, M., Rotinsulu, H., Wewengkang, D.S., Sumilat, D.A., Namikoshi, M., Yamazaki, H. 2017. Lissoclibadin 1, a Polysulfur Aromatic Alkaloid from the Indonesian Ascidian *Lissoclinum cf. badium*, Induces Caspase-Dependent Apoptosis in Human Colon Cancer Cells and Suppresses Tumor Growth in Nude Mice. *J. Nat. Prod.* 80 (2):499-502.
- Urda, C., Fernández, R., Rodríguez, J., Pérez, M., Jiménez, C., Cuevas, C. 2017. Bistratamides M and N, Oxazole-Thiazole Containing Cyclic Hexapeptides Isolated from *Lissoclinum bistratum* Interaction of Zinc (II) with Bistratamide K. *Mar. Drugs*. 15(7):209.
- Wagey, B.T. 2017. Morphometric analysis of congeneric seagrasses (*Cymodocea rotundata* and *Cymodocea serrulata*) in the coastal areas of Bunaken National Park, North Sulawesi, Indonesia. *AACL Bioflux*, 10(6):1638-1646.
- Wang, W., Nam, S.J., Lee, B.C., Kang, H. 2008. Beta-carboline alkaloids from a Korean tunicate *Eudistoma* sp.. *J. Nat. Prod.* 71(2):163-6.
- Wewengkang, D.S., Sumilat, D.A., Rotinsulu, H. 2014. Sitotoksitas Ekstrak Kasar Ascidian dari Pulau Bunaken. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 1(1):86-89.
- WHO. 2014. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014*. World Health Organization. p 257.