

BIOPROSPEKSI ANTIBAKTERI BEBERAPA JENIS SPONS DARI PERAIRAN PANGALISANG BUNAKEN

(Some Antibacterial Bioprospection Types of Sponge from Pangalisang
Bunaken Water)

Jeksen William Liem,^{1*} Robert A. Bara,¹ Deiske A. Sumilat,¹ Veibe Warouw,¹ Fitje
Losung,¹ Adnan Wantasen.²

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

*e-mail : robert.bara@unsrat.ac.id; jeksenliem@yahoo.com

Indonesian is the largest archipelagic country in the world that has a coastline of 99,093 km² which is rich in coral reefs and other marine biota. One of the biota that has been studied are sponges. Indonesian Waters is one of the largest sponge distribution in the world and it is estimated there are about 830 species living in this region only. Several species of sponges were taken from Pangalisang in Bunaken waters, e.g. *Liosina paradoxa*, *Theonella* sp, *Aoptos chromis*, *Callyspongia aerizusa* and *Haliclona* continued by extraction using Ethanol 96%. The sponge extract then tested their antibacterial activity using Disk Diffusion Kirby-Bauer Method. The results show that only *A.chromis* and *C.aerizusa* extracts were active against *B.megaterium* with the average of 17.6 mm and 15.0 mm in diameter, respectively. Whereas in *E. coli*, only *A. chromis* extract shows antibacterial activity with 15.0 mm in diameter. As a conclusion, from 5 different sponge extracts, only *A.chromis* and *C.aerizusa* extracts show activity against Gram positive *B.megaterium*, However, only *A.chromis* extract shows activity against Gram negative *E. coli*.

Keywords : *Bacillus megaterium* (DSM 32T), *Escherichia coli* (DSM 489), antibacterial activity sponge

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang mempunyai panjang pantai 99.093 km² yang kaya akan terumbu karang dan biota laut lainnya. Salah satu biota yang banyak diteliti adalah spons. Wilayah laut Indonesia merupakan salah satu pusat penyebaran terbesar spons di dunia dan diperkirakan terdapat sekitar 830 spesies yang hidup tersebar di wilayah ini. Sampel penelitian yaitu beberapa jenis spons yang diambil dari Perairan Pangalisang Bunaken. Metode yang digunakan pada penelitian ini untuk pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak sampel spons adalah metode difusi agar. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari kelima ekstraksi memperlihatkan hanya ekstrak *A.chromis* dan *C.aerizusa* yang aktif terhadap bakteri *B.megaterium* dengan nilai hambat rata-rata sebesar 17,6 mm dan 15,0 mm, sedangkan pada bakteri *E.coli* hanya ekstrak *A.chromis* yang memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai rata-rata 15,0 mm. Kesimpulan dari penelitian ini, telah dilakukan ekstraksi 5 spons yaitu, *Liosina paradoxa*, *Theonella* sp, *Aoptos chromis*, *Callyspongia aerizusa* dan *Haliclona* sp. menggunakan metode maserasi yakni etanol. Dari 5 spons yang berhasil di uji aktivitas antibakteri hanya ekstrak *A.chromis* dan ekstrak *C.aerizusa* yang menunjukkan aktivitas daya hambat terhadap bakteri *B.megaterium*, sedangkan pada bakteri *E.coli* hanya ekstrak *A.chromis* yang memiliki zona hambat dari kelima ekstrak yang di uji.

Kata kunci : *Bacillus megaterium* (DSM 32T), *Escherichia coli* (DSM 489), Aktivitas Antibakteri Spons

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang mempunyai panjang pantai 99.093 km² yang kaya akan terumbu karang dan biota laut lainnya. Salah satu biota yang banyak diteliti adalah spons. Wilayah

laut Indonesia merupakan salah satu pusat penyebaran terbesar spons di dunia dan diperkirakan terdapat sekitar 830 spesies yang hidup tersebar di wilayah ini (Van Soest, 1989; Badan Informasi Geospasial, 2015). Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi senyawa bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 1999). Untuk menjaga kelangsungan hidup dan pertahanan dirinya, spons menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder.

Spons mampu memproduksi beragam metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai senyawa bioaktif antibakteri. Semula hal ini berangkat dari asumsi bahwa metabolit sekunder merupakan pertahanan kimia alami bagi biota tertentu dapat pula melindungi makhluk hidup lainnya. Bertolak dari asumsi potensi sekunder maka kemudian berkembanglah penelitian pemanfaatan metabolit sekunder untuk kesehatan manusia dengan meneliti antibakteri dari spons (Undap, 2016; Ngantung *et al.* 2016; Luissandy *et al.* 2017).

Permasalahan resistensi bakteri terhadap beberapa jenis obat antibakteri menimbulkan banyak masalah dalam pengobatan penyakit. Senyawa antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan bahkan dapat mematikan bakteri dengan cara merusak sistem metabolisme mikroba tersebut. Salah satu organisme yang sangat berpotensi sebagai sumber obat antibakteri adalah spons, hewan ini telah menjadi perhatian utama

dalam berbagai riset senyawa bioaktif yang dikandungnya (Schunack *et al.* 1990, Madigan, 2005). Menanggapi permasalahan di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji biota spons dalam upaya penemuan senyawa bioaktif antibakteri untuk dijadikan sebagai bahan baku obat-obatan yang dapat membunuh bakteri. Mendapatkan beberapa jenis spons yang diambil dari Perairan Pangalisang Bunaken dan Menguji aktivitas antibakteri beberapa ekstrak spons menggunakan metode maserasi terhadap bakteri *Bacillus megaterium* DSM 32T dan *Escherichia coli* DSM 489.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama \pm 4 minggu. Sampel penelitian yaitu beberapa jenis spons yang diambil dari Perairan Pangalisang Bunaken, sedangkan pengujian dan analisis data dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasitika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi, Manado.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan sampel Spons di Perairan Pangalisang Bunaken.

Ekstraksi Sampel Spons

Proses ekstraksi sampel spons dilakukan dengan cara spons dipotong kecil untuk dimasukkan ke dalam botol plastik yang sudah terisi etanol 95% sebanyak 250 ml. kemudian sampel spons dimaserasi/direndamkan selama 1x24 jam. Kemudian itu dilakukan penyaringan sampel, bertujuan untuk memisahkan antara debris/ampas sampel spons dengan filtrat

Setelah dilakukan filtrasi, spons yang terkandung di dalam etanol kemudian dievaporasi atau diuapkan hingga kering dengan menggunakan alat *rotary evaporator*. Proses evaporasi terus dilakukan hingga etanol benar-benar kering dan terpisah untuk memperoleh ekstrak kasar spons. Hasil ekstrak kasar spons kemudian dimasukkan ke dalam botol untuk di uji lebih lanjut.

Pembuatan Media Cair dan Media Padat

Media cair B1 dibuat untuk kultur bakteri *B. megaterium* dan *E.coli*. Banyaknya bahan pembuatan media cair B1 untuk masing-masing erlenmeyer yaitu pepton sebanyak 3 g, ekstrak daging 2 g, natrium klorida (NaCl) 2 g, lalu dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades/dH₂O sebanyak 1000 ml, setelah itu ditutup dan dibungkus menggunakan kertas *aluminium foil* untuk di autoklaf pada suhu 121° C selama kurang lebih 15 menit (Atlas dan Snyder, 2014).

Sedangkan pembuatan media padat B1 digunakan bahan-bahan dengan takaran seperti pepton 3 g, ekstrak daging 2 g, natrium klorida (NaCl) 2 g, agar 15 g, dan dimasukkan kedalam gelas erlenmeyer lalu dilarutkan dengan aquades/dH₂O sebanyak 1000 ml (Atlas dan Snyder, 2014). setelah itu ditutup dan dibungkus menggunakan kertas *aluminium foil* untuk diautoklaf seperti yang disebut di atas.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan pada penelitian ini untuk pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak sampel spons adalah metode difusi agar (*disc diffusion Kirby Bauer*). Kertas cakram yang digunakan pada pengujian aktivitas

antibakteri ini berukuran 6 mm dengan daya serap 50 µl pada tiap kertas cakram. konsentrasi yang digunakan 100 mg/ml dengan 3 kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil morfologi 5 spons yang diperoleh yaitu dengan ciri-ciri berbentuk bantal dan warna yang berbeda. Hasil identifikasi makroskopik berdasarkan buku identifikasi spons dari (Hooper dan Voogd, 2002). kelima sampel spons tersaji dalam rangkaian (Gambar 2).



Liosina paradoxa



Theonella sp.



Aoptos chromis
Callyspongia aerisuza



Haliclona sp.

Gambar 2. Sampel spons yang dikoleksi dari Perairan Pangalisang Bunaken.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri

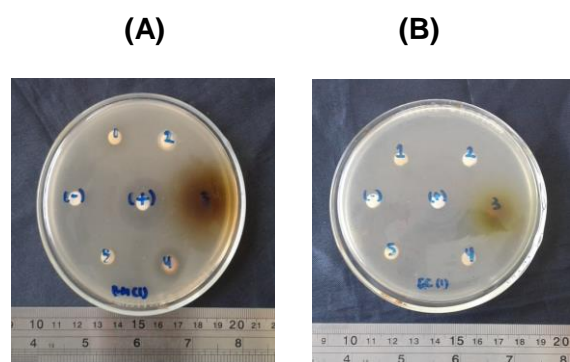
Pengujian aktivitas antibakteri dari beberapa jenis spons, hasil yang didapat melalui pengamatan yang dilakukan selama 1x24 jam dalam masa inkubasi dengan 3

kali pengulangan untuk masing-masing kedua bakteri *B.megaterium* dan *E.coli*.

Aktivitas antibakteri tersebut terlihat pada *A. chromis* dan *C. aerizusa* dari 3 kali pengulangan terhadap bakteri *B.megaterium* dan pada bakteri *E.coli* hanya ekstrak *A.chromis* dan ekstrak *C.aerizusa* yang memperlihatkan adanya aktivitas zona hambat pada Gambar (A). Sedangkan pada Gambar (B) hanya ekstrak *A.chromis* yang memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*. Nilai rata-rata pengukuran zona hambat beberapa ekstrak spons terhadap uji bakteri *B.megaterium* dan Bakteri *E.coli* dapat dilihat pada (Tabel 1).

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari kelima ekstraksi memperlihatkan ekstrak *A.chromis* dan *C.aerizusa* aktif terhadap bakteri *B.megaterium* dengan nilai hambat rata-rata berturut-turut sebesar 17,6 mm dan 15,0 mm.

Ekstrak *A. chromis* memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri yang cukup kuat dibandingkan *C.aerizusa* dan bahkan lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif. *L. paradoxa*, *Theonella* sp. *Haliclona* sp. tidak memperlihatkan adanya zona hambat, kemungkinan ketiga spesies spons tidak memiliki senyawa dengan aktivitas antibakteri.



Gambar 3. Aktivitas Antibakteri beberapa ekstrak spons pada Bakteri *B.megaterium* (Gambar A) dan *E.coli* (Gambar B) (Dokumentasi pribadi, 2018)

Tabel 1. Pengukuran diameter zona hambat dari beberapa ekstrak spons pada bakteri *B.,megaterium* dan *E.coli*.

No	Ekstrak Spons	Rerata (B.M) (DSM 32T)	Rerata (E.C) (DSM 489)
1.	<i>Liosina. p</i>	-	-
2.	<i>Theonella</i> sp	-	-
3.	<i>A.chromis</i>	17,6±1,1	15,0±0,0
4.	<i>C. aerizusa</i>	15,0±1,0	-
5.	<i>Haliclona</i> sp	-	-
6.	Kontrol (+)	25,0±0,0	33,0±0,0
7.	Kontrol (-)	-	-

Pada Pengujian aktivitas antibakteri hanya *A.chromis* yang memiliki aktivitas terhadap bakteri uji tersebut, keempat ekstrak lainnya termasuk ekstrak *C.aerizusa* yang sebelumnya aktif terhadap bakteri.

Ekstrak *A.chromis* menunjukkan aktivitas antibakteri pada kedua bakteri uji, aktivitas antibakteri *A.chromis* bersifat spektrum luas, sedangkan *C.aerizusa* hanya aktif terhadap bakteri *B.megaterium* yang memperlihatkan senyawa antibakteri yang dikandungnya berspektrum sempit.

Pada penelitian ini terdapat dua ekstrak spons yang memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *B.megaterium* dan *E.coli*. Beberapa penelitian terhadap spons pernah dilakukan oleh Losung *et al.* (2002) dan Nugraha *et al.* (2014), berhasil mengisolasi senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Penelitian selanjutnya dapat diarahkan pada penemuan kandidat obat-obatan antibakteri baru berasal dari spons terutama dengan aktivitas antibakteri yang spesifik terhadap Gram negatif. Sejauh ini

pengendalian infeksi bakteri Gram negatif seringkali menjadi kendala dalam dunia kedokteran. Hal ini diakibatkan oleh karakteristik bakteri kelompok Gram negatif yang memiliki dinding peptidoglikan yang cukup padat dan kompak sehingga menghambat proses internalisasi senyawa obat untuk mampu mempengaruhi mekanisme seluler dari bakteri. Disamping adanya “*efflux-pump*” mechanism” suatu mekanisme untuk mengeluarkan senyawa-senyawa yang tidak dibutuhkan dalam proses biotransformasi seluler bakteri melalui sistem sekresi mereka (Poole, 2007; Posangi *et al.* 2014).

Etanol digunakan sebagai kontrol negatif pada penelitian ini. Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap kedua bakteri uji.

KESIMPULAN

Beberapa hal yang disimpulkan dari penelitian ini yaitu:

Lima spons yang tumbuh dari Perairan Pangalisang yaitu *Liosina paradoxa*, *Theonella sp*, *Aoptos chromis*, *Callyspongia aerizusa*, dan *Haliclona sp*. diambil dan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan etanol.

Dari kelima jenis spons yang di uji aktivitas antibakteri, hanya ekstrak *A.chromis* dan ekstrak *C.aerizusa* yang menunjukkan aktivitas zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *B.megaterium*. Ekstrak *Liosina paradoxa*, *Theonella sp*, dan *Haliclona sp*, tidak memperlihatkan adanya zona hambat. Sedangkan pada bakteri *E.coli* hanya ekstrak *A.chromis* yang memiliki zona hambat dari kelima ekstrak yang di uji.

DAFTAR PUSTAKA

Atlas, R.M., Snyder. J.W. 2014. Handbook of medical for clinical and public health microbiology. Francis: CRC Press.

Badan Informasi Geospasial. 2015. Pentingnya informasi geospasial untuk menata laut Indonesia. <http://big.go.id/berita-surta/show/pentingnya-informasi-geospasial-untuk-menata-laut-indonesia>. Diakses Pada 26 April 2018.

Losung. F., Mangindaan, P.E.R., Posangi, J. 2002. Studi Tentang substansi antibakteri dari ekstrak spons. 24. Tesis . Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi.

Luissandy, 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):22-30.

Muniarsih T., Rachmaniar R. 1999. Isolasi substansi bioaktif antimikroba dari spons asal Pulau dari Kepulauan Seribu. Prosidings seminar bioteknologi kelautan Indonesia l'98. Jakarta 14 – 15 Oktober 1998: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta.

Madigan M. 2005. Brock biology of microorganism, London: Prentice Hall.

Ngantung, A.E.C, Bara, R.A, Sumilat, D.A 2016. Uji aktivitas antibakteri dari spons. *Dictyonella funicularis* dan *Phyllospongia lamellosa* yang diambil dari Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2(1):10-16.

Nugraha, 2014. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Turunan 1, 2-Dioksana dari Spons Laut *Plakortis simplex*. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Poole, K. 2007. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanism. 39 (3):162-176.

Posangi, J, Bara, R. 2014. Analisis aktivitas dari jamur endofit yang terdapat

dalam tumbuhan bakau *Avicennia marina* di Tasik Ria Minahasa “ *Jurnal Pesisir dan Laut tropis*, 1 (1):30-38.

Schunack, W, Mayer K, Haake, M. 1990. Senyawa obat. Wattimenna J R, Subito, penerjemah. UGM press, Yogyakarta. edisi ke-2.

Undap. N.I.J. 2016. Senyawa antibakteri spons. *smenospongia aurea*, *strepsichordaia* sp, *Agelas tubulata* dan *Phyllospongia* sp. dari Perairan Pantai Malalayang Manado terhadap pertumbuhan strain bakteri. Tesis. Pascasarjana Ilmu Perairan. Universitas Sam Ratulangi. Manado.

Van Soest, R.W.M. 1989. The Indonesian sponges fauna : A Status Report. *Ne &.J.Sea Res* 23:223-30.

Voogd, N, Soest, V. 2002. Indonesia Sponges of the genus *petrosia vosmaer* (Depospongiae: *Haplosclerida*). *Journal zool. Med. leiden* 76. 11-13.