

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *Theonella swinhoei* EXTRACTS AGAINST THE GROWTH OF *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus* BACTERIA

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL SPONS *Theonella swinhoei* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Kevin R. Mengko^{1)*}, Defny S. Wewengkang¹⁾, Erladys M. Rumondor¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*kevvinnmengko@gmail.com

ABSTRACT

Sponges are one of the components that compose coral reef which have a potential bioactive substance that has not been utilized. This test attempts to know the antibacterial compound activity of sponges *Theonella swinhoei* extracts against the bacterial growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Maceration method is used for this extraction using 95% ethanol as solvent. The antibacterial activity is tested using the disk diffusion agar method kirby-bauer. The results against *Staphylococcus aureus* is 12,99 mm, 12,98 mm and 12,28 mm. *Escherichia coli* is 11,83 mm, 11,79 mm and 11,53 mm. The results showed that the extract is effective in inhibiting the bacterias and categorized strong against both bacterias.

Keywords: *Theonella swinhoei*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Extraction, Antibacterial

ABSTRAK

Spons merupakan satu biota laut penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak spons *Theonella swinhoei* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95%. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion kirby-bauer*. Hasil yang didapat dari pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 12,99 mm, 12,98 mm dan 12,28 mm dan *Escherichia coli* adalah sebesar 11,83 mm, 11,79 mm dan 11,53 mm. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak tergolong kuat dalam aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji.

Kata Kunci: *Theonella swinhoei*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Ekstraksi, Antibakteri

PENDAHULUAN

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentasenya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat. Jumlah senyawa hasil isolasi dari spons laut sebanyak 3500 jenis senyawa dari 475 spesies yang berasal dari dua kelas, yaitu *Calcarea* dan *Demospongiae*. Ekstrak metabolit dari spons mengandung senyawa bioaktif yang diketahui mempunyai sifat aktifitas seperti: sitotoksik dan antitumor, antivirus, anti HIV dan antiinflamasi, antifungi, antibakteri, dan penghambat aktivitas enzim (Suparno, 2005).

Antibakteri diperlukan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Contoh beberapa bakteri yang dapat menyebabkan infeksi diantaranya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) pada manusia. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan sepsis pada luka bedah, abses payudara pada ibu-ibu, mata lengket dan lesi-lesi kulit pada bayi (Gibson, 1996). Menanggapi permasalahan di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri spons *Theonella swinhoei* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODOLOGI PENELITIAN

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian ini ialah eksperimental laboratorium yang akan menguji aktivitas antimikroba ekstrak *Theonella swinhoei* yang diperoleh dari Teluk Manado.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2020 - April 2021 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi dan Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, gunting,

tabung oksigen, snorkel, fins, *zipper lock bag*, botol 600 ml, talenan, *cool box*, pisau, *Erlenmeyer* (Pyrex), corong, *rotary evaporator*, timbangan analitik, corong pisah, gelas ukur, gelas kimia (Pyrex), cawan petri, autoklaf, pinset, pembakar spritus, *magnetic stirrer*, pipet tetes, *micro tubes*, *hot plate*, batang pengaduk, *Laminar air flow*, rak tabung reaksi, tabung reaksi, lemari pendingin, inkubator, cakram (*paper disc*), mikropipet, mistar berskala, kertas label dan spidol permanen.

Bahan

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

Preparasi Sampel

Sampel spons *Theonella swinhoei* diperoleh dari perairan Teluk Manado Sulawesi Utara. Sampel diambil dengan menggunakan alat bantu (masker, snorkel, fins, tabung oksigen, ziplok dan pisau), kemudian dimasukkan dalam ziplok dan diberikan label. Sampel yang telah didapat langsung dibersihkan dari pengotor, lalu dipotong kecil-kecil dan langsung dimasukkan ke dalam botol yang berisi pelarut etanol 95%. Botol sampel dimasukkan ke dalam kotak dingin (*cool box*) yang berisi es batu dan tidak terkena matahari secara langsung, di laboratorium sampel tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Ekstraksi

Sampel direndam dengan menggunakan larutan etanol 95%. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut selama 3 kali 24 jam pada temperatur kamar yang dilindungi dari cahaya dan sesekali dikocok, kemudian diambil filtratnya dan residu dibuang dan menghasilkan 3 filtrat yang kemudian dicampur menjadi satu. Lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering yang terbentuk ekstrak kasar selanjutnya ditimbang dengan timbangan analitik (Ortez, 2005).

Sterilisasi Alat

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

Pembuatan Media Cair

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).

Kultur Bakteri Uji

Media cair yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan dengan masing-masing bakteri yang sudah dikultur (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dipipet 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 Media Agar B1

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, nutrisi 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. Pengujian pH dilakukan dengan kertas pH. Media agar B1 siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Ortez, 2005).

Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif dalam pengujian antibakteri ini menggunakan kloramfenikol *paper disc*. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan pelarut etanol, dengan cara membuat larutan stok etanol dengan mengambil sebanyak 200 µL etanol kemudian ditotolkan pada kertas cakram (Silap dkk., 2020).

Pembuatan Media Agar B1

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, nutrisi 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. Pengujian pH dengan kertas pH dilakukan. Media agar B1 siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Ortez, 2005).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Pengujian aktivitas antibakteri ini memerlukan 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. 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. Kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji spons *Theonella swinhoei* dengan pinset diletakkan kedalam cawan petri lalu diinkubasi selama 1x24 jam (Ortez, 2005).

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dapat dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan uji 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 total zona bening cakram. Diameter zona hambat tersebut kemudian dikategorikan kekuatan daya antibakterinya (Davis and Stout, 1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Sampel spons *Theonella swinhoei* yang diambil dari perairan Teluk Manado, dipotong kecil-kecil, setelah itu di masukkan ke dalam wadah, hal ini bertujuan untuk

memperluas permukaan yang berinteraksi dengan pelarut sehingga lebih banyak senyawa yang dapat ditarik oleh pelarut. Untuk mendapatkan penyarian yang maksimal, agar senyawa kimia di dalam sampel dapat terekstrak secara menyeluruh maka dilakukan remaserasi atau pengulangan dengan pergantian pelarut selama tiga kali menggunakan pelarut etanol. Proses ekstraksi sampel spons menggunakan larutan etanol 95%, pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah pelarut polar yaitu etanol, selain bersifat polar etanol juga memiliki gugus C₂H₅ yang relatif berperan sebagai senyawa non polar. Sifat dan gugus tersebut membuat etanol hampir dapat melarutkan semua produk metabolit sekunder dan pelarut etanol yang bersifat selektif, tidak beracun, dan bersifat universal yang cocok untuk mengekstrak semua golongan senyawa metabolit sekunder (Kristanti *et al.*, 2008).

Filtrat hasil maserasi didapat setelah itu kemudian dilakukan teknik evaporasi atau penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Penggunaan *rotary evaporator* ini bertujuan untuk menguapkan pelarut dan memperoleh senyawa hasil ekstraksi yang diinginkan. Suhu yang digunakan dalam proses ini adalah 37°C dengan tujuan agar tidak merusak senyawa bioaktif yang terdapat pada filtrat apabila menggunakan suhu yang tinggi. Hasil dari proses ini adalah mendapat ekstrak kasar dari pelarut (Aditya *et al.*, 2016).

Pengujian Aktivitas Bakteri

Pengujian aktivitas senyawa antimikroba dari ekstrak etanol, dari spons *Theonella swinhoei* diuji terhadap *Staphylococcus aureus* yang mewakili gram positif, *Escherichia coli* mewakili gram negatif dengan menggunakan metode difusi agar. Metode difusi agar dipilih karena memiliki kelebihan dapat digunakan untuk senyawa non polar, cepat, mudah dan sederhana. Metode difusi agar ini dilakukan dengan cara kertas cakram yang berisi senyawa antimikroba, kemudian diletakkan pada media padat yang telah diinokulasi mikroba. Senyawa antimikroba akan berdifusi ke dalam media padat yang diinokulasi mikroba dan menghambat pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan terbentuknya daerah jernih di sekeliling kertas cakram (Brooks *et al.*, 2005).

Penggunaan mikroba uji ini bertujuan untuk mengetahui bahwa apakah ekstrak dari *Theonella swinhoei* ini dapat berasosiasi memiliki aktivitas sebagai antimikroba, serta apakah mempunyai spektrum luas yaitu dapat membunuh bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, atau mempunyai spektrum sempit yaitu hanya dapat membunuh salah satu dari bakteri Gram positif atau Gram negatif. Uji aktivitas antimikroba ini diperoleh hasil melalui pengamatan yang dilakukan selama 1x24 jam masa inkubasi dengan 3 kali pengulangan untuk masing-masing bakteri terhadap spons *Theonella swinhoei*. Pengulangan ini dilakukan untuk lebih mengakuratkan hasil yang akan diperoleh. Terbentuknya zona hambat (daerah bening) disekeliling cakram berukuran ± 6 mm (paper disk) menunjukkan kepekaan mikroba terhadap bahan antimikroba atau antibiotik yang digunakan sebagai positif kontrol (Valgas *et al.*, 2007).

Kontrol positif dan kontrol negatif digunakan dalam penelitian ini. Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji, dengan membandingkan diameter daerah hambat yang terbentuk. Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan etanol. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap mikroorganisme aerobik dan anaerobik, bakteri gram positif maupun negatif. Kloramfenikol aktif terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (Noviana, 2004).

Tabel 1. Standar Kekuatan Daya Antimikroba Menurut Davis dan Stout (1971)

Diameter Zona Bening (mm)	Kategori
>20	Sangat kuat
10 - 20	Kuat
5 - 10	Sedang
<5	Lemah

Tabel 2. Hasil diameter daya antimikroba.

Bakteri	Ulangan (mm)	Kontrol (mm)	
		(+)	(-)
<i>E. coli</i>	I	11,83	
	II	11,79	34,55
	III	11,53	-
<i>S. aureus</i>	I	12,99	
	II	12,98	37,65
	III	12,28	-

Diameter zona hambat dari kontrol positif kedua bakteri uji lebih besar dibandingkan dengan ekstrak dan kontrol negatif. Diameter zona hambat dari bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 34,55 mm dan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 37,65 mm. Untuk kontrol negatif tidak memperlihatkan adanya daya hambat untuk kedua mikroba uji. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antimikroba, sehingga daya hambat yang terbentuk tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa yang ada pada spons *Theonella swinhoei*.

Kontrol negatif berfungsi untuk memperlihatkan apakah metanol berpengaruh pada ekstrak atau tidak. Kontrol negatif menunjukkan perbedaan terhadap ekstrak sampel uji. Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat pada skrining antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. Ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif tidak berpengaruh pada skrining antibakteri beberapa ekstrak spons.

Kriteria pada tabel 1 adalah kriteria yang di gunakan dalam penelitian untuk menggolongkan daya hambat kontrol dan bahan uji sampel ekstrak. Maka hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa diameter zona bening yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli* yaitu 11,83 mm, 11,79 mm dan 11,53 mm, tergolong kategori kuat, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 12,99 mm, 12,98 mm dan 12,28 mm tergolong kategori kuat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol spons *Theonella swinhoei* memiliki daya hambat yang lebih peka pada bakteri gram positif dibandingkan gram negatif.

Hasil yang berbeda disebabkan karena kemampuan setiap bakteri dalam melawan aktivitas antibakteri berbeda-beda bergantung ketebalan dan komposisi dinding selnya. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentasi lebih tinggi dari pada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis dibanding bakteri gram positif. Struktur bakteri gram negatif memiliki membran lapisan luar yang menyelimuti lapisan tipis peptidoglikan, struktur luar peptidoglikan ini adalah lapisan ganda yang mengandung fosfolipid, protein dan lipopolisakarida. Lipopolisakarida terletak

pada lapisan luar dan merupakan karakteristik bakteri gram negatif. Sementara sel bakteri gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dimana di dalamnya mengandung senyawa teikoat dan lipoteikoat (Pelczar, 1986). Penelitian ini menunjukkan adanya bioaktivitas ekstrak spons *Theonella swinhoei* yang berpotensi membunuh bakteri.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol Spons *Theonella swinhoei* memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat yang dikategorikan kuat.

SARAN

Perlu di lakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam Spons *Theonella swinhoei* yang mungkin bisa di gunakan dalam bidang medis.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, A., A. Trianto & Santoso, A. 2016. Eksplorasi Jamur Simbion Pada Spons Demospongiae yang Dikoleksi dari Perairan Kupang Penghasil Bahan Antimikroba Multidrug Resistent (MDR). *Jurnal ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro*. **5**: 511-518.
- Brooks, G. L., J.S. Butel & S.A Morse. 2005. Mikrobiologi Kedokteran Ed. 23, Translation of Medical Microbiology, 23th Ed. Alih Bahasa oleh Hartanto, Salemba Medika, Jakarta. Davis, W. W., T.R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological assay. *Journal of microbiology*. **22**: 659-665.
- Gibson, J.M. 1996, *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk perawatan*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kristanti, A. N., N.S. Aminah., M. Tanjung & B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Unair Press, Surabaya.
- Noviana, H. 2004. Isolasi Salmonella typhi dari Penderita Demam Tifoid, *Jurnal Kedokteran Yarsi*. **12**: 54-60.
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B.

- Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit UI Press, Yogyakarta.
- Suparno. 2005. *Kajian Bioaktif spons laut (Porifera: Demospongiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia Dalam Bidang Farmasi. Makalah Pribadi. Bogor: Institute Pertanian Bogor. Universitas Islam Negeri Sunan Ampel, Surabaya.*
- Silap, G.E., Wewengkang, D., Rotinsulu, H. 2020. Uji Aktivitas Antimikroba Karang Lunak *Dendronephtya Sp.*, Yang Dikoleksi Dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen, Kabupaten Minahasa Tenggara Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Dan *Candida Albicans*. *Jurnal Pharmacon UNSRAT*. **9** (1).
- Valgas, C., S.M. de Souza, E. F. A. Smania & A. Smania. 2007. Screening Methods to Determine Antibacterial Activity Of Natural Products. *Brazilian Journal of Microbiology*. **38**: 369-380.