

SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA JENIS SPONS TERHADAP
PERTUMBUHAN STRAIN BAKTERI *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,
Staphylococcus saprophyticus, dan *Pseudomonas aeruginosa*

(Antibacterial Screening Activity of Several Sponges Against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*)

Deiske A. Sumilat

Staf Pengajar pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi,
Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia
email: deiske.sumilat@gmail.com

ABSTRACT

Sponge samples collected around Manado waters were obtained 30 species and their crude extracted have been tested in vitro for their activity in inhibiting bacterial growth. Based on the results of antibacterial screening in 30 sponge extracts, there were 23 sponge extracts which had bioactivity in inhibiting the growth of *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus* and *P. aeruginosa*, Sponge extract No. 43 (of 30 sponge extracts tested) was the most active in inhibiting bacterial growth and had the widest inhibition zone diameter.

Keywords: screening, sponge, crude extract, antibacterial, Manado

ABSTRAK

Sampel spons dikoleksi di sekitar Perairan Manado sebanyak 30 jenis/spesies, dimana ekstrak kasarnya telah diuji secara in vitro aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil skrining antibakteri pada 30 ekstrak spons didapatkan hasil ada 23 ekstrak spons yang mempunyai bioaktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus* dan *P. aeruginosa*, Ekstrak spons No. 3 (dari 30 ekstrak spons yang diuji) adalah yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan memiliki diameter zona hambat yang paling lebar.

Kata kunci: skrining, spons, ekstrak kasar, antibakteri, Manado

PENDAHULUAN

Organisme bentik mempunyai kandungan senyawa bioaktif yang tinggi karena memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder serta dapat mensintesis bermacam-macam komponen organik seperti polyketida, alkaloid, peptida dan terpen. sebagian senyawa yang diisolasi mempunyai aktivitas toksik yang tinggi terhadap bakteri, sel kanker dan parasit. Senyawa antibakteri termasuk ke dalam antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Substansi atau bahan aktif antibakteri merupakan senyawa kimia yang bisa menghambat pertumbuhan

mikroorganisme tertentu. Kemampuan menghambat yang dimiliki senyawa ini sangatlah penting dalam bidang farmakologi sebagai obat terhadap penyakit khususnya yang disebabkan oleh mikroba.

Beberapa penelitian spons yang memiliki aktifitas sebagai antibakteri telah dilakukan di laboratorium Biologi Molekular dan Farmasitika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat, seperti aktivitas antibakteri spons *Dictyonella funicularis* dan *Phyllospongia lamellose* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Ngantung dkk., 2016); antibakteri fraksi ODS spons *Agelas* sp. (Luissandy dkk., 2017); spons *Plakortis*

sp. (Pasodung dkk., 2018); skrining ekstrak kasar spons yang menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus megaterium* dan *Escherichia coli* (Nowin, dkk., 2018), aktivitas antibakteri spons yang menghambat pertumbuhan bakteri tuberkulosis *Mycobacterium smegmatis* (Sumilat, 2019).

Melalui skrining dengan metode difusi agar, telah dilakukan penelitian terhadap beberapa spons yang memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus*, dan *P. aeruginosa*. *S. aureus* dan *S. saprophyticus* adalah bakteri yang tergolong Gram positif, sedangkan *E. coli*, dan *P. aeruginosa* adalah bakteri Gram Negatif. Hasil

penelitian ini menunjukkan bahwa spons merupakan organisme avertebrata laut yang sangat berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

METODE PENELITIAN

Pengambilan organisme Spons

Sampel spons dikoleksi di sekitar Perairan Manado pada kedalaman 5-10 meter dengan peralatan scuba diving dan selanjutnya dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado untuk proses maserasi, evaporasi dan pengujian aktivitas antibakteri.



Gambar 1. Peta lokasi sampling

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, dan lain lain.

Bahan kimia yang digunakan adalah kloramfenikol, etanol 95%, metanol, n-Heksana, etil asetat,

sedangkan media kultur bakteri adalah media B1 yang terdiri dari agar, pepton, ekstrak daging (*meat extract*), natrium klorida (NaCl), air laut steril serta ekstrak kasar spons.

Bakteri

Bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus* dan *P. aeruginosa*, diperoleh dari Laboratorium

Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi.

Ekstraksi Spons

Sampel spons dimaserasi bertahap selama 3 kali (500 ml) dalam larutan etanol selama 24 jam selanjutnya untuk mendapatkan filtrat disaring menggunakan kertas cakram *whatman* dan kemudian filtrat untuk masing masing sampel spons diambil 50 ml dan dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40° hingga etanol terevaporasi sempurna dan tersisa ekstrak kasar (modifikasi dari Ebada et al., 2008).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Media cair dan padat B1 untuk kultur bakteri terbuat dari 0,5 g pepton, 0,3 g NaCl, 0,3 g ekstrak daging, dan aquades 50 ml dan air laut steril sebanyak 50 ml, untuk media padat ditambahkan agar 1,5 g. Kemudian media diautoklaf untuk disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pengujian antibakteri dari ekstrak spons pada penelitian ini menggunakan konsentrasi dari 20 mg/ml (200.000 ppm) dan diambil 50 µl untuk 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.

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

Skrining uji antibakteri dilakukan pada 30 jenis spons yang dikoleksi dari Perairan Manado (Gambar 1.). Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh setiap ekstrak spons dalam menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan pada Tabel 1 dan Gambar 2 untuk masing masing bakteri *S. aureus*,

E. coli, *S. saprophyticus*, dan *P. aeruginosa*. Diameter zona hambat ekstrak kasar spons terhadap bakteri *S. aureus* (Gambar 3), *E. coli* (Gambar 4), *S. saprophyticus* (Gambar 5), dan *P. aeruginosa* (Gambar 6), menunjukkan ekstrak spons No 3 memiliki zona hambat yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak spons lainnya. Secara umum uji antibakteri dengan metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer Method*) menyimpulkan apabila zona hambat yang terbentuk di sekitar organisme uji lebih besar atau sama jika dibandingkan dengan kontrol, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Diameter zona hambat pada kontrol positif apabila dibandingkan dengan diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak spons No. 3 adalah 30 mm untuk *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus*, dan 20 mm untuk *P. aeruginosa* (Tabel 1), hal ini dapat membuktikan bahwa ekstrak spons No 3 memiliki daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Davis and Stout (1971) 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 melebihi dari 20 mm dikategorikan sangat kuat. Kontrol positif (Tabel 1) yang digunakan sebagai pembanding adalah obat antibiotik kloramfenikol dan telah diketahui konsentrasi paling tepat untuk menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri serta telah diketahui bahwa kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terdapat pada ke 23 jenis spons berspektrum luas dikarenakan kemampuannya menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hal ini diduga bahwa spons memproduksi senyawa antibakteri dalam bentuk metabolit sekunder untuk melawan semua

tekanan di dalam laut. Senyawa antibakteri dapat digolongkan juga sebagai spektrum luas dan spektrum sempit. Spektrum luas bekerja aktif terhadap lebih dari satu jenis

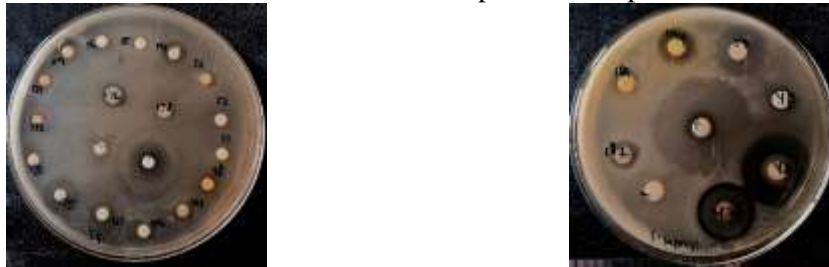
bakteri, Gram positif dan Gram negatif. Sedangkan spektrum sempit artinya suatu senyawa bekerja aktif hanya terhadap satu golongan Gram positif atau Gram negatif. (WHO, 2014).



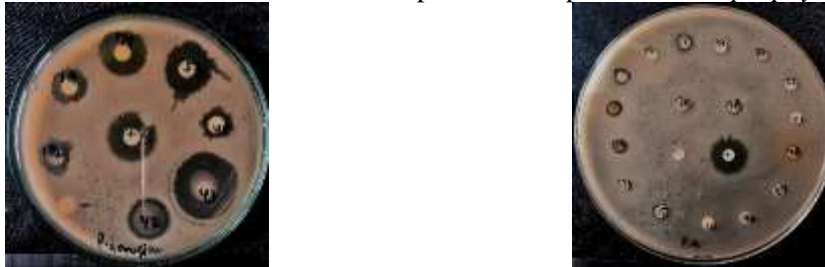
Diameter zona hambat ekstrak kasar spons terhadap bakteri *S. aureus*



Diameter zona hambat ekstrak kasar spons terhadap bakteri *E. coli*



Diameter zona hambat ekstrak kasar spons terhadap bakteri *S. saprophyticus*



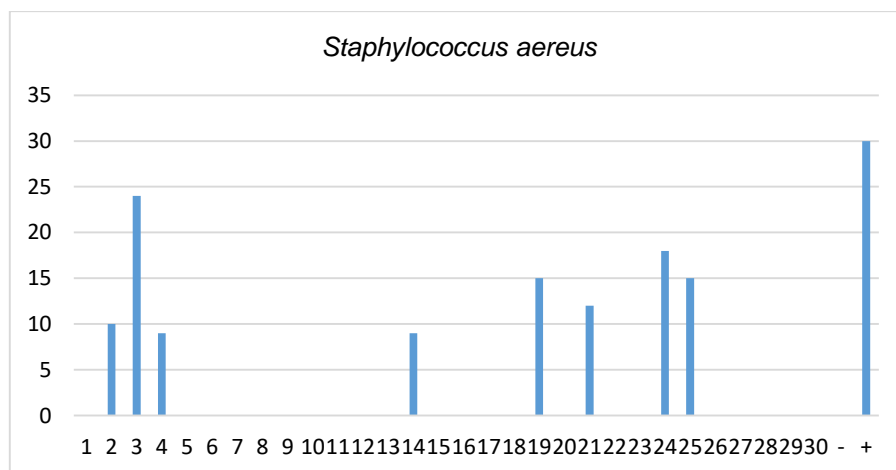
Diameter zona hambat ekstrak kasar spons terhadap bakteri *P. aeruginosa*

Gambar 2. Skrining antibakteri ekstrak kasar spons terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus*, dan *P. aeruginosa*

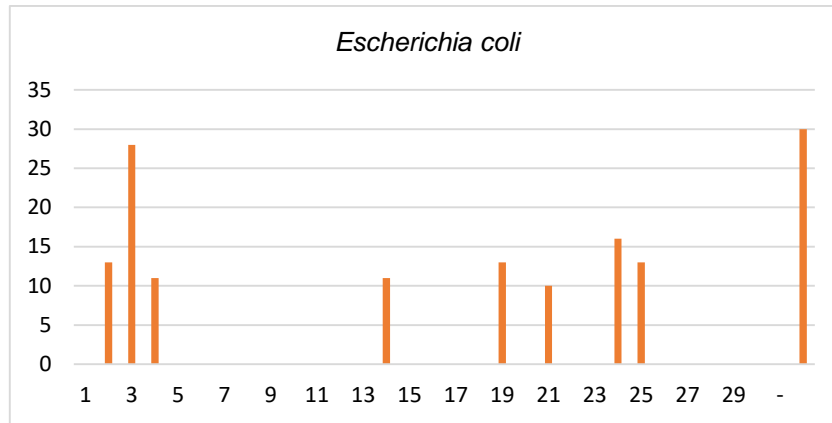
Tabel 1. Skringing Ekstrak Spons dalam menghambat Pertumbuhan Bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus* dan *P. aeruginosa*

Berat kering ekstrak kasar dari 50 mL filtrat (mg)	No Sampel	Nomor Identifikasi Sampel	Zona Hambat (mm)			
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
229,3	1	41	-	-	13	-
295,4	2	42	10	13	20	16
220,6	3	43	24	28	25	24
2401	4	45	9	11	7	12
422,8	5	46	-	-	13	-
889	6	47	-	-	13	-
168,8	7	48	-	-	6	8
74,7	8	51	-	-	-	-
232,2	9	52	-	-	-	-
74,5	10	53	-	-	10	8
283,4	11	54	-	-	13	-
194,1	12	55	-	-	8	10
144,1	13	56	-	-	-	-
115,9	14	57	9	11	13	17
576,6	15	58	-	-	-	-
128,4	16	171	-	-	8	8
393,8	17	172	-	-	8	9
234,4	18	173	-	-	8	-
147,5	19	174	15	13	15	19
149,1	20	175	-	-	19	7
178,8	21	176	12	10	12	8
283,8	22	178	-	-	-	-
276	23	179	-	-	-	-
119,2	24	181	18	16	10	14
585,8	25	182	15	13	10	12
132,6	26	183	-	-	9	-
163,7	27	185	-	-	-	-
268,2	28	186	-	-	10	-
158,4	29	187	-	-	8	-
454	30	189	-	-	10	-
Kontrol Positif			30	30	30	20
Kontrol Negatif			-	-	-	-

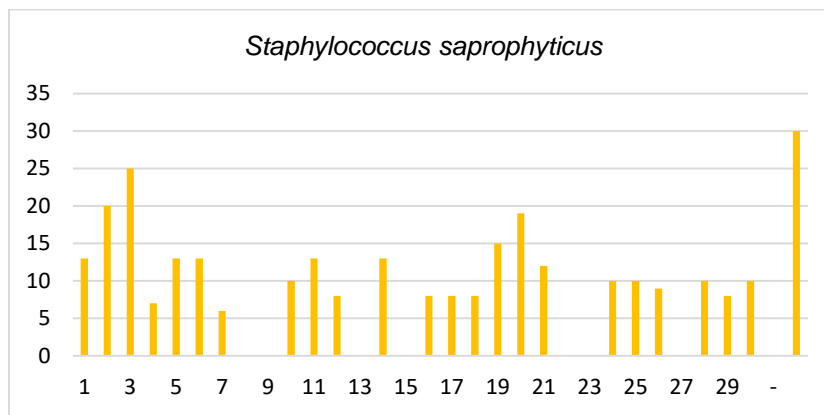
Kontrol Positif: Chloramfenicol; Kontrol Negatif: Metanol; Diameter Paper Disc: 6 mm



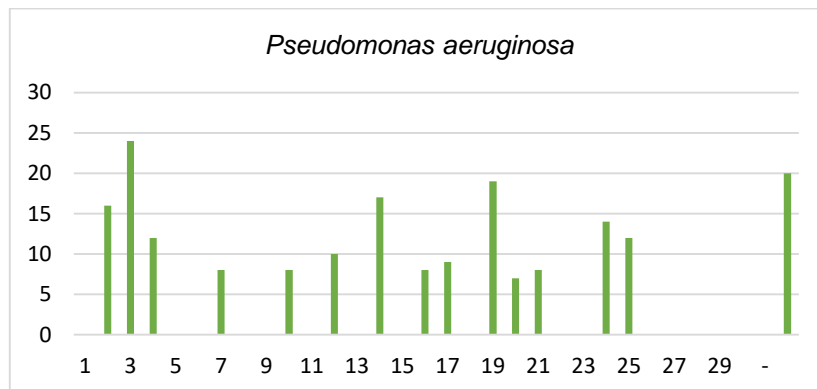
Gambar 3. Diagram batang zona hambat ekstrak spons terhadap bakteri *S. aureus*



Gambar 4. Diagram batang zona hambat ekstrak spons terhadap bakteri *E. coli*



Gambar 5. Diagram batang zona hambat ekstrak spons terhadap bakteri *S. saprophyticus*



Gambar 6. Diagram batang zona hambat ekstrak spons terhadap bakteri *P. aeruginosa*

KESIMPULAN

Dari Perairan Manado ditemukan 30 jenis spons dan berdasarkan hasil skrining antibakteri pada 30 ekstrak spons diperoleh 23 ekstrak spons yang mempunyai bioaktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.*

aureus, *E. coli*, *S. saprophyticus* dan *P. aeruginosa* dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Ekstrak spons No. 2, 3, 5, 14, 19, 21, 24, 24 memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan keempat bakteri uji tersebut. Ekstrak spons No. 7, 10, 12, 16, 17, 20 memiliki daya hambat

terhadap pertumbuhan bakteri *S. saprophyticus* dan *P. aeruginosa*. Ekstrak spons No. 1, 5, 6, 11, 18, 26 28, 29, 30. memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. saprophyticus*. Ekstrak spons No. 3 (dari 30 ekstrak spons yang diuji) adalah yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *S. saprophyticus* dan *P. aeruginosa* dan memiliki diameter zona hambat yang paling lebar. Diperlukan penelitian lanjut untuk uji antibakteri dengan menggunakan ekstrak murni dari spons, dan diperlukan identifikasi dan taksonomi untuk jenis jenis spons yang berpotensi sebagai kandidat obat antibiotik/antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Davis, W.W and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbial Antibiotic Assay. Applied Microbiology. 22 (4): 659–665.
- Ebada, S.S., Edrada, R.A., Lin, W., Proksch, P. 2008. Methods for isolation, purification and structural elucidation of bioactive secondary metabolites from marine invertebrates. Nature Protocols, 3(12): 1820-1831.
- 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. ISSN: 2339-1537.
- Nowin, E, Warouw, V, Rimper, J.R.T.S.L., Paulus, J.H., Pangkey, H., Sumilat, D.A. 2018. Penapisan (Skrining) Aktivitas Antibakteri Beberapa Ekstrak Spons dari Teluk Manado. Jurnal
- Pasodung, A., Losung, F., Angkouw, E.D., Lintang, R.A.J., Mantiri, D.H.M., Sumilat, D.A. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Spons *Plakortis* sp. yang Dikoleksi dari Perairan Bunaken. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis. 1(1): 44-51. ISSN: 2339-1537.
- Sumilat, D.A. 2019. Antibacterial Activity ODS Fractions of Marine Sponge *Auletta* sp. Against *Mycobacterium smegmatis*. Jurnal Ilmiah Platax. 7 (1): 329–334. ISSN: 2302-3589.
- WHO. 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. World Health Organization. p 257.