

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK KASAR BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN SPONGE *Acanthostrongylophora* sp.

Elvy Like Ginting, Veibe Warouw dan Rizal Wahyudi Suleman

Staf Pengajar pada Program Studi Ilmu Kelautan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT, Manado, 95115.

ABSTRACT

Sponges have a potential to produce bioactive compounds. Their ability is caused by a symbiotic relationship with microorganisms in these bacteria. Because of this critical role, the bacteria symbiotic with sponge have supposedly great potential in terms of producing bioactive compounds that have been isolated from sponges (Lee, et al, 2001). In this study, using bacterial culture preparations isolated from *Acanthostrongylophora* sp. (sponge), the bacterial isolates were tested for their antibacterial activities using a well diffusion test. Based on the antibacterial activity test, the bacterial isolates known as BPO (shaped wavy white dots) and BPB (white threadlike have a certain type of thread) had antibacterial activity. ODS had a broad spectrum as potent against all three types of tested bacteria (*Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*).

Keywords: antibacterial activity, sponge.

PENDAHULUAN

Sponge sebagai penghasil senyawa bioaktif terbesar diantara invertebrata laut lainnya, memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan. Dilaporkan dalam dekade terakhir sebanyak 50 persen senyawa bioaktif yang ditemukan pada invertebrata laut berasal dari sponge (Harper, *dkk.*, 2001 dalam Murniasih, 2005). Antibakteri, antifungal, antitumor dan antivirus adalah beberapa potensi yang telah ditemukan dan dikembangkan dari sponge (Taylor, *dkk.*, 2007).

Kemampuan sponge dalam menghasilkan senyawa bioaktif dikarenakan hubungan simbiotik dengan mikroorganisme dalam hal ini bakteri. Hubungan ini mencakup penyediaan nutrisi dengan membantu translokasi metabolisme termasuk nitrifikasi, fiksasi nitrogen, fotosintesis dan membantu pertahanan kimiawi serta berperan dalam biofouling. Karena peranan ini maka bakteri yang bersimbiosis dengan sponge diduga memiliki potensi yang besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang selama ini diisolasi dari sponge (Lee, *dkk.*, 2001).

Potensi ini memungkinkan bakteri simbiosis pada sponge mampu memproduksi senyawa bioaktif dan menggantikan sponge yang selama ini menghasilkan senyawa

bioaktif. Bakteri mampu memproduksi secara cepat kandungan bionyawa sehingga senyawa bioaktif bisa diproduksi dengan lebih mudah, cepat dan banyak dalam skala bioteknologi dari pada mengkultur sponge itu sendiri (Thiel, 2006). Penelitian ini memberikan informasi tentang aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan sponge, khususnya sponge *Acanthostrongylophora* sp.

METODE PENELITIAN

Bakteri Simbiosis dengan Sponge *Acanthostrongylophora* sp.

Bakteri yang bersimbiose dengan sponge *Acanthostrongylophora* sp. telah berhasil diisolasi. Berdasarkan karakteristik morfologi, berhasil diperoleh 5 isolat bakteri. Kultur sediaan bakteri tersebut ditumbuhkan dalam agar miring (*slant agar*) dan disimpan dalam lemari es. Kultur sediaan bakteri inilah yang digunakan dalam penelitian ini.

Kultur Massal dan Ekstraksi Bakteri Simbiosis

300ml LB media diinokulasi dengan bakteri simbiosis yang berada dalam agar miring lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Peraud, 2006). Bakteri simbiosis dipanen dengan menggunakan

Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kasar Bakteri

sentrifus dengan kecepatan 1000rpm selama 10 menit sehingga terdapat 2 lapisan yaitu presipitat dan supernatan. Presipitat ditambahkan metanol dengan perbandingan 1:2 dan diaduk menggunakan vorteks selama 5 menit, diekstrak dengan sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000rpm dan diperoleh supernatan 2 dan presipitat 2. Presipitat 2 ditambahkan metanol dengan perbandingan 1:2 dan diaduk dengan menggunakan vorteks selama 5 menit selanjutnya diekstrak kembali menggunakan sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000rpm sehingga diperoleh supernatan 3 dan presipitat 3. Supernatan 2 dan 3 ditambahkan kemudian diuapkan dalam *vacum pumps* sampai dicapai volume akhir $\frac{1}{5}$ bagian dari volume awal. Setelah itu dikering-anginkan dan diperoleh ekstrak kasar bakteri simbion.

Penyiapan Antibiotik Pemanding

Antibiotik pemanding yang digunakan yaitu amoxicillin produksi Indofarma, ampicilin produksi Kimia Farma dan tetrasiklin produksi Pharos. Konsentrasi antibiotik yang digunakan adalah 0,5µg/µl.

Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Kepadatan setiap bakteri uji yang digunakan adalah 106 sel/ml.

Penyiapan Media

Lapisan dasar disiapkan dengan melarutkan 14,4g nutrisi agar dalam 360ml aquades kemudian disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu nutrisi agar dituang dalam cawan petri secara merata ±15ml dan dibiarkan mengeras.

Lapisan pembedihan disiapkan dengan melarutkan 1,32g NA dalam 160ml aquades, dipanaskan kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 8ml dan di-autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Bakteri uji dengan kepadatan 106sel/ml sebanyak 2 ml ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian divorteks dan dituangkan ke dalam cawan petri yang memiliki lapisan dasar sampai media tersebut mengeras.

Pengujian Aktivitas

Teknik yang digunakan adalah uji difusi dengan metode sumur. Larutan sampel uji yang dibuat dengan melarutkan ekstrak ke dalam metanol sebanyak 1ml, kemudian dimasukkan ke dalam sumur dengan diameter 4mm sebanyak 50µl dengan menggunakan mikropipet lalu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya areal bening di sekitar sumur, kemudian diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. Pada pengujian ini juga dicobakan metanol dan kontrol antibiotik sebagai pembanding yaitu ampisilin, amoxicillin dan tetrasiklin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelima isolat yang telah berhasil disolasi dari sponge dikultur pada medium cair (LB) kemudian disentrifus untuk mendapatkan presipitat kemudian diekstraksi. Hasil ekstrak dari kelima isolat bakteri simbion dengan diujicobakan pada bakteri *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Hasil uji aktivitas antibakteri kelima isolat bakteri berdasarkan zona hambat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat (mm) Ekstrak Bakteri Simbion Terhadap Jenis Bakteri Uji

Kode	Ekstrak	Zona Hambat (mm)		
		Gram positif		Gram negatif
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>V. cholerae</i>
TPK	E1	-	-	-
BPO	E2	± 2,33	± 2,33	± 1,33
BPB	E3	-	± 1,5	-
TPG	E4	-	-	-
BPU	E5	-	-	-
Kontrol		-	-	-
Amoxicillin		± 10,83	± 10,5	-
Ampicillin		± 11,33	± 12,5	-
Tetrasiklin		-	-	± 11

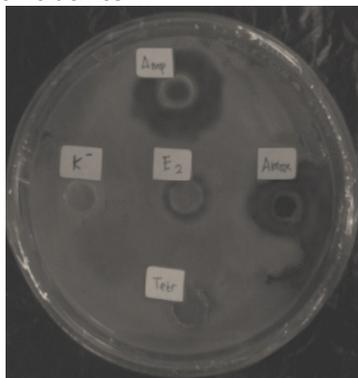
Ket : - = tidak ada aktivitas; ± = nilai rata-rata

Dari kelima bakteri simbion yang diuji aktivitas antibakterinya, terdapat dua isolat bakteri yang mempunyai kemampuan menghambat jenis bakteri uji. Kedua isolat bakteri yang mempunyai aktivitas antibakteri tersebut adalah isolat dengan kode

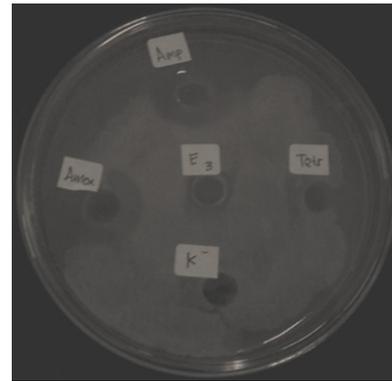
BPO dan BPB. Isolat bakteri BPO memiliki aktivitas terhadap ketiga jenis bakteri yaitu *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* yang termasuk gram positif dan *Vibrio cholerae* yang termasuk bakteri gram negatif. Sedangkan isolat bakteri BPB hanya memiliki aktivitas antibakteri untuk jenis bakteri gram positif yakni *Staphylococcus aureus*. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak isolat bakteri BPO memiliki spektrum luas yang mampu bekerja untuk bakteri gram positif dan negatif sedangkan ekstrak isolat bakteri BPB memiliki spektrum yang lebih sempit.

Kontrol metanol menunjukkan tidak adanya aktivitas sehingga dapat dipastikan bahwa ekstrak yang masih mengandung metanol tidak berpengaruh terhadap aktivitas yang terbentuk. Secara umum efek antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak bakteri simbiosis relatif lebih dominan terhadap bakteri gram positif dibandingkan dengan gram negatif. Hal ini dikarenakan membran plasma bakteri gram negatif dilindungi oleh dinding peptidoglikan kaku (Olson, 1993).

Diameter penghambatan dari pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholerae* (Gambar 1) berturut-turut adalah 2-3mm, 2-3mm dan 1-2mm untuk ekstrak isolat bakteri BPO sedangkan untuk ekstrak isolat bakteri BPB pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*, diameternya lebih kecil yaitu 2-1,5mm (Gambar 2). Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak bakteri simbiosis yang didapat ternyata masih jauh dari hasil aktivitas antibiotik pembanding yang diujicobakan. Hal ini dikarenakan ekstrak yang digunakan masih ekstrak kasar, namun hasil pengujian sudah mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri.



Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak Kasar Bakteri Simbiosis BPO Terhadap *Vibrio cholerae*.



Gambar 2. Zona Hambat Ekstrak Kasar Bakteri Simbiosis BPB Terhadap *Staphylococcus aureus*.

Sida (2005) menemukan aktivitas antibakteri pada sponge *lanthella* sp. Dengan zona hambat 7,67mm untuk bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan 3mm untuk bakteri uji *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari ekstrak sponge *lanthella* sp. lebih besar dibandingkan dengan aktivitas antibakteri pada ekstrak bakteri yang berasosiasi dengan sponge *Acanthosrongylophora* sp. Hal ini disebabkan sponge diekstrak secara langsung bersama-sama mikrosimbiotanya yang menempati intra dan ekstraseluler dari sponge. Hal ini tentunya berpengaruh pada kekuatan antibakteri yang dihasilkan. Lee, dkk. (2001) melaporkan bahwa sponge dan mikrosimbiotanya bersama-sama memproduksi metabolit sekunder sebagai kompensasi dari pertahanan kimiawi dan mikrosimbiosis mempunyai peran penting dalam metabolisme sponge, walaupun dalam beberapa kasus dilaporkan bahwa mikrosimbiosis bisa memproduksi secara independen metabolit sekunder tanpa ada campur tangan dari sponge (Thiel, 2006).

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis berhubungan erat dengan kemampuan sponge yang telah menjadi salah satu penghasil senyawa bioaktif paling prospektif dari semua invertebrata laut dan juga peranan besar bakteri simbiosis itu sendiri dalam proses metabolisme dan pertahanan kimiawi dari sponge (Lee, dkk., 2001).

KESIMPULAN

Isolat bakteri BPO (berbentuk titik-titik putih berombak) dan BPB (berbentuk benang putih berbenang) memiliki aktivitas

Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kasar Bakteri

antibakteri. BPO memiliki spektrum luas karena ampuh terhadap ketiga jenis bakteri uji (*Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*).

DAFTAR PUSTAKA

- Lee, Y. K., J, H, Lee., dan H, K, Lee., 2001. Microbial symbiosis in Marine Sponges. pdf.
- Murniasih, T., 2005. Substansi Kimia Untuk Pertahanan Diri Untuk Hewan Tak Bertulang Belakang. pdf.
- Olson, J., 1993. Farmakologi, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Peraud, O., 2006. Isolation And Characterization Of A Sponge-Associated Actinomycete That Produces Manzamines, [dissertation] Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy
- Sida, E., 2005. Uji aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Sponge (*Ianthella* sp) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. [skripsi]. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, UNSRAT. Manado.
- Taylor, M. W., R, Radax., D, Steger., dan M, Wagner., 2007. Sponge-Associated Microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential. Diakses 27 juli 2008 di <http://mmbr.asm.org>
- Thiel, V. 2006. Sponge-Associated Bacteria: Specificity diversity, and Antimicrobial potential. [dissertation]. Zur Erlangung des Doktorgrades, der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, der Christian-albrechts-universität. zu Kiel.