

Bioaktivitas Ekstrak Kloroform Metabolit Sekunder yang Dihasilkan oleh Bakteri yang Berasosiasi dengan Karang Lunak *Sinularia* sp terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *V. harveyi*

Wills Ari Setyati* & Subaglyo

Laboratorium Eksplorasi dan Bioteknologi Kelautan, PS. Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Kampus Ilmu Kelautan, Tembalang Telp. 024 7474698 HP 08156504390 Email : wills.setyati@yahoo.com

Abstrak

Telah dilakukan skrining bakteri yang mampu menghasilkan metabolit sekunder dari karang lunak *Sinularia* sp, ekstraksi metabolit sekunder serta uji bioaktivitasnya terhadap *E. coli*, *S. aureus*, *V. harveyi*. Pengambilan karang lunak dilakukan di perairan Pulau Panjang dengan metode scuba diving. Bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak diisolasi dengan metode spread plate menggunakan media Zobells. Aktivitas antibakteri dari semua isolat yang diperoleh diuji dengan metode difusi agar menggunakan paper disk. Isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi dilakukan ekstraksi dan fraksinasi terhadap metabolit sekunder yang disekresikan. Ekstraksi dan fraksinasi dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Berdasarkan hasil penelitian dapat diskrining 15 isolat bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sinularia* sp yang mempunyai kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibakteri. Hasil uji kuantitatif diperoleh 6 isolat terpilih yang mempunyai aktivitas antibakteri tinggi. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut adalah *Vibrio pelagius* II, *Moraxella*, *Vibrio anguillarum*. Berdasarkan hasil ekstraksi diperoleh 5 fraksi yang berasal dari ekstrak kloroform metabolit sekunder dari *Moraxella* sp yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Fraksi III merupakan fraksi yang paling aktif terhadap *E. coli* dan *S. aureus*, *V. harveyi*.
Kata kunci : Bioaktivitas, ekstrak kloroform, metabolit sekunder, *Sinularia* sp.

Abstract

Bacterial screening of secondary metabolite producer soft coral *Sinularia* sp, secondary metabolite extraction and bioactivities assay on *E. coli*, *S. aureus*, *V. harveyi*, have been conducted. Soft coral was collected by scuba diving method from Panjang Island waters. Coral associated bacteria were then isolated on Zobells medium using spread plate method. Antibacterial activities of the isolated bacteria were tested using paper disc agar diffusion method. The most active antibacterial isolated bacteria was extracted and fractionated by TLC and Column Chromatography method. Fifteen bacteria associated with antibacterial secondary metabolites of soft coral *Sinularia* sp have been screened. Based on quantitative examination six isolated bacteria were selected as the most active antibacterial agents and further identification showed that they were belongs to *Vibrio Pelagius* II, *Moraxella*, and *Vibrio anguillarum* species. Five fractions of *Moraxella* sp. secondary metabolites has been extracted using chloroform and showing that antibacterial activity of Fraction III was the most active against *E. coli*, *S. aureus* and *V. harveyi*.

Key words: Bioactivity, chloroform extract, secondary metabolite, soft coral

Pendahuluan

Sejak tahun 1995, terdapat kecenderungan kurangnya perhatian dalam pencarian senyawa baru dari sumber-sumber tradisional seperti makroalgae, moluska, tunikata, octocora, dan sponge.

Di sisi lain penelitian tentang metabolit sekunder dari mikroorganisme tumbuh cukup pesat dikarenakan adanya dugaan bahwa sejumlah metabolit sekunder yang diperoleh dari algae dan binatang invertebrata laut lainnya, mungkin juga dihasilkan oleh

mikroorganisme yang berasosiasi dengannya (Fenical, 1993; Pietra, 1997; Faulkner *et al.*, 2000; Jensen dan Fenical, 2000). Meskipun terlalu dini untuk menentukan kepastiannya, dapat dikatakan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme, mungkin berbeda dengan yang dihasilkan oleh inang invertebrata (Kelecom, 2002).

Halangan utama dalam pengembangan dari hampir semua produk hayati laut yang saat ini telah mengalami proses evaluasi dan pengembangan,

adalah masalah pengadaan. Konsentrasi dari banyak senyawa bioaktif yang berasal dari invertebrata laut termasuk karang lunak jumlahnya sangat sedikit, kadang hanya berjumlah kurang dari 10^{-6} % dari berat basah (Procksch *et al.*, 2002). Disamping itu telah terbukti sangat sulit, bahkan kadang tidak mungkin untuk menyediakan sejumlah besar dari senyawa bioaktif dari invertebrata laut, karena jumlahnya yang terbatas dalam organisme penghasil, atau karena jumlah organisme yang terbatas, serta masalah geografik, musim.

Karang lunak *Sinularia sp* telah dieksploitasi sebagai sumber senyawa bioaktif yang penting dalam bidang farmasi, dan industri. Kegiatan ini akan mengancam keberadaan ekosistem terumbu karang, karena untuk menghasilkan senyawa aktif secara komersial diperlukan sejumlah besar karang lunak dalam proses ekstraksi.

Untuk itu perlu diupayakan pencarian sumber-sumber senyawa baru khususnya dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak, yang dapat menjadi alternatif sumber senyawa bioaktif yang selama ini banyak diperoleh dari karang lunak yang merupakan bagian penting dari ekosistem terumbu karang.

Materi dan Metode

Karang lunak dikoleksi dari perairan pulau Panjang Jepara pada kedalaman 3-10 meter dengan menggunakan *scuba diving*. Sampel kemudian dimasukkan dalam tas plastik poliethilen steril (Whirpak, Nasco, USA) dan ditempatkan di *cool box*, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dianalisis.

Media Zobell 2216E (15,0 gr Bacto-agar, 5,0 gr Bacto-peptone, 1,0 gr yeast ekstrak dan 19,5 mg Feri fosfat dan tri salt steril hingga mencapai volume 1 liter) digunakan sebagai media isolasi bakteri antagonis. pH diatur hingga 7,5 - 7,6.

Metode yang digunakan dalam penanaman bakteri adalah metoda *Pour plate* (Agar tuang) pada media Zobells. Pemisahan dan pumium isolat bakteri dilakukan dengan metoda goresan (*streak method*) menggunakan media Zobell steril.

Skrining dilakukan menggunakan teknik paper disk. Pada media Zobells ditanam secara aseptik bakteri uji menggunakan L-glass. Kemudian supernatan kultur isolat bakteri diteteskan diatas paper disk. Diamati adanya zona hambatan setiap 24 jam selama 72 jam.

Isolat bakteri yang positif menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri ji selanjutnya dikultur dalam 4 liter media NB. Setelah umur kultur 4 x 24

jam, dilakukan pemisahan supernatan dan sel-sel bakteri menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan selanjutnya diekstraksi menggunakan khloroform dengan perbandingan 1 : 1. Ekstraksi dilakukan menggunakan corong pisah. Fraksi khloroform selanjutnya dipisahkan dari senyawa-senyawa yang larut didalamnya menggunakan rotary evaporator.

Ekstrak kasar (*crude extract*) yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengujian campuran pelarut khloroform-methanol menggunakan TLC. Dari hasil pengujian ini didapatkan pelarut yang paling baik adalah campuran khloroform-methanol 20%. Ekstrak kasar selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut khloroform-methanol. Fraksinasi dilakukan pada kolom khromatografi. Fraksi-fraksi yang diperoleh selanjutnya dipisahkan dari pelarutnya menggunakan rotary evaporator.

Bioassay dilakukan dengan metode difusi agar pada media NA. Sejumlah 100 uL kultur bakteri uji dituangkan pada cawan petri yang berisi 20 mL media NA. Selanjutnya permukaan agar diletakan paper disk yang ditambah dengan fraksi-fraksi yang diperoleh dari proses pemisahan. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambatan yang dihasilkan.

Isolat bakteri terseleksi selanjutnya akan diidentifikasi mengacu pada standar prosedur dalam *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* dan *Simidu scheme*

Hasil dan Pembahasan

Uji Antagonis antar isolat bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak Sinularia sp

Hasil uji antagonis antar isolat bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sinularia sp* ditunjukkan pada Tabel 1.

Hasil isolasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sinularia sp* diperoleh 17 isolat yang mempunyai perbedaan warna dan morfologi koloni. Hasil analisis uji sifat antagonisme antar populasi bakteri dari isolat yang diperoleh menunjukkan ada isolat-isolat yang bersifat saling antagonisme (antagonisme 2 arah), antagonisme (antagonisme satu arah) dan tidak menunjukkan sifat antagonisme (Tabel 1). Isolat bakteri yang menunjukkan bentuk-bentuk interaksi antagonisme mempunyai potensi untuk dieksplorasi kemampuannya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat dikembangkan sebagai sumber antibiotik baru yang potensial. Salah satu strategi antagonisme dilakukan melalui pembentukan dan pengsekresian senyawa metabolit sekunder ke lingkungan.

Tabel 1. Matriks uji antagonis antar populasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sinularia* sp

Isolat	4A	4B	4C	4D	4E	4F	SI1	SI2	SI3	3A	3B	3C	3D	3E	3F	3G	3H
4A	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
4B	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
4C	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
4D	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
4E	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
4F	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
SI1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SI2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
SI3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
3A	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-
3B	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-
3C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-
3D	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-
3E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
3F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
3G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
3H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+

Keterangan: + = antagonis, - = tidak antagonis

Skринing bakteri yang mempunyai aktivitas antibakteri

Hasil skринing terhadap isolat bakteri yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *V. harveyi* ditunjukkan pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil skринing kemampuan menghasilkan senyawa metabolit sekunder antibakteri diperoleh 15 isolat bakteri dari karang lunak *Sinularia* sp (88,24 % dari total isolat yang di peroleh). Hasil ini menunjukkan bahwa sebagian besar populasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri. Hasil uji terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *V. harveyi*, isolat bakteri yang berasal dari *Sinularia* sp diperoleh hasil satu isolat (5,88 %) mampu menghambat 3 jenis bakteri uji, dua isolat (11,76 %) mampu menghambat 2 jenis bakteri uji, dua belas isolat (70,59 %) mampu menghambat 1 jenis bakteri uji. Berdasarkan Tabel 3. tampak bahwa ada 7 isolat bakteri laut yang menunjukkan aktivitas antibakteria terhadap *E. coli* yaitu isolat dengan kode 1.1, 1.2, 2.1, 2.3, 2.4, 2.10 dan 2.14. Ada 6 isolat bakteri laut yang menunjukkan aktivitas antibakteria terhadap *S. aureus* adalah isolat dengan kode 2.1, 2.2, 2.5, 2.6, 2.11 dan 2.12 (Tabel 3), sedangkan isolat bakteri laut yang menunjukkan aktivitas antibakteria terhadap *V. harveyi* ada 5 adalah isolat dengan kode 1.3, 2.2, 2.3, 2.7, 2.9 dan 2.12 (Tabel 3).

Hasil identifikasi

Berdasarkan hasil karakterisasi secara morfologi dan biokimiawi terhadap isolat isolat dengan kode 2.1, 2.12, 2.4, 2.14 diperoleh hasil bahwa isolat dengan kode 2.1 diidentifikasi sebagai *Vibrio pelagius II*, isolat 2.12 diidentifikasi sebagai *Moraxella*, isolat 2.4 diidentifikasi sebagai *Vibrio pelagius II* dan isolat 2.14

diidentifikasi sebagai *Vibrio anguillarum*.

Ekstraksi

Hasil ekstraksi dan pengujian aktivitas antibakteri dari fraksi-fraksi yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 5.

Uji kualitatif ini menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* lebih sensitif terhadap senyawa antibakteria yang dihasilkan oleh isolat-isolat bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sinularia* sp dibandingkan dengan *S. aureus* dan *V. harveyi*. Hal ini ditunjukkan dengan lebih banyaknya isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Perbedaan sensitivitas oleh jenis-jenis bakteri yang berbeda disebabkan oleh karena adanya perbedaan kemampuan bakteri untuk mempertahankan diri atau perbedaan kemampuan adaptasi molekular. Menurut Conception *et al* (1994) setiap bakteri mempunyai kemampuan pertahanan diri yang berbeda-beda. Sehingga suatu bakteri yang dihadapkan pada paparan suatu senyawa bioaktif akan bereaksi untuk menetralsir senyawa tersebut. Bakteri yang tidak mampu menetralsir senyawa bioaktif tersebut akan mati atau terhambat pertumbuhannya. Masing-masing bakteri mempunyai mekanisme khusus untuk menetralsir senyawa antibakteri. Hal ini dilakukan supaya bakteri tersebut menjadi resisten terhadap senyawa antibakteri, dan mampu bertahan hidup di lingkungannya. Sudarmono (1994) mengemukakan ada berbagai mekanisme yang menyebabkan suatu populasi bakteri menjadi resisten terhadap antibiotika, diantaranya adalah : mikroorganisme dapat memproduksi enzim yang dapat merusak daya kerja obat atau antibiotika; terjadinya perubahan permeabilitas bakteri terhadap antibiotika tertentu; terjadinya perubahan pada tempat tertentu di dalam sel sekelompok mikroorganisme

Tabel 2. Rerata diameter zona hambat (mm) yang dihasilkan oleh isolat bakteri yang berasosiasi dengan *Sinularia* sp terhadap bakteri Uji *E. Coll*

No.K	ode Isolat	Hari ke-1		Hari ke-2		Hari ke-3		Hari ke-4	
		Rerata	Std	Rerata	Std	Rerata	Std	Rerata	Std
1.	1.1	8.2	0.5	7.8	0.5	7.7	0.6	7.8	0.5
2.	1.2	8.5	0.6	8.3	0.4	8.3	0.5	8.3	0.5
3.	2.1	8.6	0.7	8.9	0.9	8.4	0.7	8.4	0.9
4.	2.3	8.4	0.6	8.5	0.7	8.2	0.7	8.2	0.7
5.	2.4	8.6	1.0	8.6	1.0	8.7	1.0	8.6	1.1
6.	2.10	7.2	0.3	7.6	0.3	7.4	0.3	7.3	0.3
7.	2.14	8.4	0.5	8.5	0.4	8.8	0.4	8.6	0.3

Tabel 3. Rerata diameter zona hambat (mm) yang dihasilkan oleh isolat bakteri yang berasosiasi dengan *Sinularia* sp terhadap bakteri uji *S. aureus*

No.K	ode Isolat	Hari ke-1		Hari ke-2		Hari ke-3		Hari ke-4	
		Rerata	Std	Rerata	Std	Rerata	Std	Rerata	Std
1.	2.1	7.9	0.2	7.8	0.2	7.8	0.3	7.6	0.3
2.	2.2	9.3	1.1	8.1	0.9	8.2	0.8	7.8	0.6
3.	2.5	8.9	0.5	8.7	0.4	8.7	0.4	8.4	0.4
4.	2.6	8.1	0.3	8.0	0.2	7.8	0.2	7.7	0.2
5.	2.11	8.5	0.4	8.3	0.2	8.3	0.2	8.3	0.2
6.	2.12	9.7	0.5	9.8	0.7	10.1	0.6	10.1	0.4

Tabel 4. Rerata diameter zona hambat (mm) yang dihasilkan oleh isolat bakteri yang berasosiasi dengan *Sinularia* sp terhadap bakteri uji *Vibrio harveyi*

No.K	ode Isolat	Hari ke-1		Hari ke-2		Hari ke-3		Hari ke-4	
		Rerata	Std	Rerata	Std	Rerata	Std	Rerata	Std
1.	1.3	7.9	0.5	8.0	0.4	7.8	0.5	7.7	0.5
2.	2.1	8.7	0.4	8.9	0.2	8.5	0.4	8.4	0.4
3.	2.3	7.6	0.4	7.7	0.3	7.4	0.3	7.4	0.3
4.	2.7	7.4	0.3	7.6	0.1	7.5	0.1	7.2	0.2
5.	2.9	8.4	0.6	8.5	0.6	8.3	1.0	8.3	1.0
6.	2.12	8.7	0.6	9.0	0.7	9.4	1.0	9.0	0.7

yang menjadi target dari antibiotika; terjadinya perubahan pada *metabolic pathway* yang menjadi target antibiotika dan dapat juga menyebabkan terjadinya perubahan enzimatik sehingga bakteri meskipun masih dapat hidup dengan baik tapi kurang sensitif terhadap antibiotik.

Dilihat dari efektivitasnya menghambat pertumbuhan bakteri, antibakteri digolongkan menjadi dua, yaitu *broad spectrum antibacteria* yaitu antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif dan *narrow spectrum antibacteria* yaitu antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif atau negatif saja (Lay, 1994). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada dua isolat bakteri (berasal dari karang lunak *Sinularia* sp) yang menghasilkan senyawa antibakteri yang bersifat *broad spectrum antibacteria* yaitu isolat 2.1 dan isolat 2.12. Isolat 2.1 menghambat bakteri *E.coli* (gram negatif), *V. harveyi* (gram negatif) dan *S. aureus* (gram positif) sedangkan isolat 2.12 menghambat bakteri *S.aureus* (gram positif) dan *V. harveyi* (gram negatif). Berdasarkan uji kuantitatif diperoleh hasil luas zona hambatan yang berbeda-

beda. Diameter zone hambatan yang terbentuk oleh isolat-isolat yang berasal dari *Sinularia* sp berkisar antara 7,2-9,4 mm. Menurut Brocks dan Madigan, 1991 diameter zona hambatan yang terbentuk di sekitar paper disk dipengaruhi oleh sifat fisika-kimia dari senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme. Sifat-sifat ini selanjutnya akan berpengaruh terhadap laju difusi. Laju difusi molekul senyawa antibakteria di dalam media agar dipengaruhi oleh berat molekul dan aksi terhadap agar. Zat dengan berat molekul yang lebih besar memiliki laju difusi yang lebih besar dibandingkan dengan zat yang mempunyai berat molekul yang lebih kecil, sedangkan beberapa senyawa antibakteria laju difusinya akan terhambat dengan adanya media agar. Konsentrasi senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme juga berpengaruh terhadap luas zona hambatan. Konsentrasi senyawa antibakteria yang tinggi akan berdifusi lebih jauh dibandingkan dengan senyawa antibakteria dengan konsentrasi yang lebih rendah. Selain itu konsentrasi senyawa antibakteri juga menentukan kemampuan penghambatan bakteri uji. Ada suatu nilai yang disebut MIC (*minimum inhibition concentration*). Nilai ini menentukan pada konsentrasi

Tabel 5. Hasil uji sensitivitas (mm) diameter zona hambatan fraksi-fraksi ekstrak kloroform isolat 2.12 waktu inkubasi 24 jam

Fraksi	Bakteri uji	Diameter zona hambatan (mm)
I	<i>V. harveyi</i>	9.3
	<i>S. aureus</i>	12.9
	<i>E. coli</i>	8.5
II	<i>V. harveyi</i>	8.8
	<i>S. aureus</i>	10.5
	<i>E. coli</i>	10.3
III	<i>V. harveyi</i>	13.9
	<i>S. aureus</i>	20.4
	<i>E. coli</i>	14.9
IV	<i>V. harveyi</i>	8.7
	<i>S. aureus</i>	9.6
	<i>E. coli</i>	8.4
V	<i>V. harveyi</i>	8.7
	<i>S. aureus</i>	9.7
	<i>E. coli</i>	8.8

Keterangan konsentrasi ekstrak : 0.25 mg/disk

Tabel 6. Hasil uji sensitivitas (mm diameter zone hambatan) fraksi-fraksi ekstrak kloroform isolat 2.12 waktu inkubasi 48 jam

Fraksi	Bakteri uji	ulangan			Rata-rata
		1	2	3	
I	<i>V. harveyi</i>	3	10.3	1.00	10.4
	<i>S. aureus</i>	6	8.6	8.0	8.4
	<i>E. coli</i>	9	8.6	6.7	8.1
II	<i>V. harveyi</i>	8	9.0	9.0	8.6
	<i>S. aureus</i>	8.3	9.3	14.0	8.7
	<i>E. coli</i>	6.0	12.3	6.0	8.1
III	<i>V. harveyi</i>	12.3	12.6	13.6	12.8
	<i>S. aureus</i>	20.0	21.0	16.7	19.2
	<i>E. coli</i>	8.6	19.0	7.6	11.2
IV	<i>V. harveyi</i>	7.3	8.3	6.7	7.4
	<i>S. aureus</i>	11.7	7.3	9.3	9.4
	<i>E. coli</i>	8.0	8.3	8.0	8.1
V	<i>V. harveyi</i>	8.3	8.3	9.3	8.6
	<i>S. aureus</i>	11.0	6.6	10.3	9.3
	<i>E. coli</i>	9.0	11.0	7.0	9.0

Keterangan konsentrasi ekstrak: 0.25 mg/disk

Tabel 7. Hasil uji sensitivitas (mm diameter zone hambatan) fraksi-fraksi ekstrak kloroform isolat 2.12 waktu inkubasi 72 jam

Fraksi	Bakteri uji	Rata-rata
I	<i>V. harveyi</i>	8.7
	<i>S. aureus</i>	8.3
	<i>E. coli</i>	8.4
II	<i>V. harveyi</i>	8.8
	<i>S. aureus</i>	11.7
	<i>E. coli</i>	12.8
III	<i>V. harveyi</i>	9.06
	<i>S. aureus</i>	10.2
	<i>E. coli</i>	8.16
IV	<i>V. harveyi</i>	8.16
	<i>S. aureus</i>	10.06
	<i>E. coli</i>	8.26
V	<i>V. harveyi</i>	8.73
	<i>S. aureus</i>	9.86
	<i>E. coli</i>	9.5

Keterangan konsentrasi ekstrak : 0.25 mg/disk

berapa suatu senyawa antibakteri mulai menunjukkan aktivitas antibakteri ini. Pada saat senyawa antibakteri yang dihasilkan dalam konsentrasi dibawah MIC akan tidak menunjukkan zona hambatan.

Berdasarkan hasil pengamatan juga tampak adanya fenomena perubahan diameter zona hambatan dengan bertambahnya waktu inkubasi. Penurunan diameter zona hambatan yang terjadi dapat dimungkinkan karena lemahnya daya antibakteri yang dihasilkan, sehingga enzim yang diproduksi oleh bakteri uji dapat merusak daya kerja senyawa antibakteri tersebut. Diduga senyawa antibakteri ini termasuk dalam golongan bakteriostatik. Menurut Dwijoseputro (1989) senyawa yang bersifat bakteriostatik adalah senyawa yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan tidak membunuhnya, sehingga jika bahan antibakterinya hilang atau sudah rusak, maka bakteri uji akan dapat tumbuh lagi. Hal ini akan menyebabkan daerah yang semula jernih di sekitar paper disk (tidak ditumbuhi bakteri uji) akan keruh (ditumbuhi bakteri uji) akibatnya terjadi penurunan diameter zona hambatan.

Pada isolat yang menunjukkan fenomena peningkatan diameter zona hambatan, dimungkinkan karena senyawa antibakteri yang dihasilkan bersifat sangat kuat potensi antibakterinya, sehingga bisa meningkat dengan bertambahnya waktu pengamatan. Luas daerah jernih di sekitar paper disk ini, menunjukkan kekuatan daya kerja antibakteria dan juga merupakan indikasi kepekaan mikroorganisme terhadap antibakteria. Selain itu diameter zona hambatan juga dipengaruhi oleh kecepatan berdifusi senyawa antibakteria dalam medium. Dwijoseputro (1989) menggolongkan senyawa ini sebagai senyawa antibakteri yang mempunyai sifat bakterisida, karena dapat membunuh bakteri. Proses bakterisida ini berjalan searah, yaitu bakteri yang telah mati tidak dapat tumbuh lagi meskipun bahan antibakterinya telah hilang atau rusak. Menurut Lay (1994) berbagai faktor mempengaruhi penghambatan mikroorganisme antara lain kepadatan populasi mikroorganisme, kepekaan terhadap bahan antimikrobia, lama waktu mikroorganisme terpapar bahan antimikrobia, konsentrasi bahan antimikrobia, suhu dan kandungan bahan organik.

Hasil ekstraksi senyawa bioaktif yang sekresikan keluar oleh isolat bakteri terpilih (isolat 2.12) diperoleh ada 5 fraksi (Tabel 7) dan Berdasarkan hasil pengujian fraksi ini tampak bahwa isolat 2.12 menghasilkan jenis senyawa bioaktif antibakteri yang lebih banyak daripada isolat B. Perbedaan jumlah fraksi juga dipengaruhi oleh kemampuan tiap isolat untuk melakukan biosintesis

senyawa-senyawa metabolit sekunder sama seperti kemampuan suatu isolat bakteri menghasilkan senyawa yang antibakteri. Berdasarkan Tabel 7 tampak bahwa bakteri uji mempunyai sensitivitas yang berbeda terhadap masing-masing fraksi. Sensitivitas tertinggi ditunjukkan oleh bakteri uji *E coli S. aureus* dan *V. harveyi* terhadap fraksi III (masing masing menghasilkan diameter zona hambatan 18,73 mm, 18,73 mm).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diskrining 30 isolat bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sinularia* sp. yang mempunyai kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibakteri.

Dari uji kuantitatif diperoleh 6 isolat terpilih yang mempunyai aktivitas antibakteri tinggi. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut adalah *Vibrio marinus*, *Vibrio splendidus*, *Vibrio pelagius*, *Vibrio pelagius II*, *Moraxella*, *Vibrio anguillarum*.

Ekstraksi terhadap isolat terpilih dihasilkan 5 fraksi yang berasal dari ekstrak kloroform metabolit sekunder dari *Moraxella sp* yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Fraksi III merupakan fraksi yang paling aktif terhadap *E coli* dan *S. aureus*, dan *V. harveyi*.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini terlaksana dengan dana penelitian dasar. Oleh karena itu diucapkan terimakasih kepada Proyek Peningkatan Penelitian Pendidikan Tinggi, Ditjend Dikti, Depdiknas yang telah memberikan dana melalui proyek penelitian dasar. Juga kepada Sdr Yuni, Najib, Kumiawan, Uilly, Tutut dan Sari mahasiswa tugas akhir Jurusan Ilmu Kelautan yang telah bersedia terlibat aktif dalam penelitian.

Daftar Pustaka

- Brock, T.D. & Madigan, M., 1991, *Biology of Microorganisms*, 6th ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Calay, J. 1998. *Soft Coral and Sea Fans*. Australian Institute of Marine Science. Perth. (www.aims.gov.au) (Tanggal Pengambilan : 7 Desember 2003).
- Faulkner, D.J, M.K., M.G. Haygood., C.E. Saomon, & E.W. Schmidt, 2000, *Symbiotic Bacteria in Sponge: Source of bioactive substances*. In : Fusetani, N (Ed). *Drug From the sea*, Basel : Karger. 107-119
- Fenical, W, 1993, *Chemical studies of marine bacteria: developing a new source*. *Chem. Rev.* 93:107-119
- Haris, A. 2001. *Hubungan Karakteristik Lingkungan*

dengan Ciri Khas Kimiawi senyawa Terpen Karang Lunak *Sinularia fleksibis* Quoi dan Gaimard (Octocorallia : Alcyonacea) di Perairan Pulau Barrang Lompo Sulawesi Selatan. Institut Pertanian Bogor. Haris_Halide@yahoo.co.uk. (Tanggal Pengambilan : 7 Desember 2003).

- Hutabarat, S & Evans, S.M. 1985. *Pengantar Oseanografi*. UI Press. Jakarta.
- Jensen, P.R., & W. Fenical, 2000, *Marine microoganisme and drug discovery: current status and future potential* in Fusetani, N (Ed). *Drug From the sea*, Basel: Karger. 6-29
- Kelecom, Alphonse. 2001. *Secondary Metabolites From Marine Microorganisms*. *Annals of the Brazillian Academy of Sciences*. Manuscript received on September 24,2001: accepted for publication on October 16,2001. (www.scielo.br/aabc)
- Manuputty, Anna, E.W. 1996. *Pengenalan Beberapa Karang Lunak (Octocorallia, Alcyonacea) di Lapangan*. *Oseana XXI (4) :1-11*.
- Montano, N.E., and B.A. Glorioso, *Extraction and isolation of marine natural product*. in: *Workbook second natural workshop: Strategies in the quest for novel bioactive compounds from the sea*. Marine science Institute and Institute of chemistry. University of the Philliphines, Diliman, Quezon city, Philliphines.
- Pietra, F, 1997, *Secondary metabolites from marine microorganisms-bacteria, protozoa, algae and fungi-achievements and prospectives*, *J. Nat. Prod.* 14:453-464.
- Proksch, P., R.A. Edrada, & R. Ebel, 2002, *Drugs from the seas-current status and microbiological implication*, *App. Microbiol.Biotechnol.* 59:125-134
- Radjasa, O.K. 1994. *Chemical Ecology of Soft Corals*. *Majalah Pengembangan Ilmu Peternakan dan Perikanan*. IV(102-107).
- Radjasa, O.K., Sabdono, A., and Suharsono, 1999, *The growth inhibition of marine biofilm-forming bacteria by the crude extract of soft coral Sinularia sp*. *J. Coastal Dev.* 2: 329-334.
- Radjasa, OK, A Sabdono, Suharsono. 1997. *Possible of environmentally friendly marine antifoulant from soft corals*. *Proceeding of International Symposium on Future issues of research Tokyo, 1997*.
- Sidharta, B. R. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Kelautan*. Universitas Atma Jaya: Yogyakarta.