

BAB I. PENDAHULUAN UMUM

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang dan menjadi salah satu negara dengan jumlah penduduk terbesar di dunia yang sumber daya alamnya sangat melimpah baik di daratan maupun laut. Indonesia sebagai negara kepulauan yang 2/3 wilayahnya adalah lautan, memiliki pulau sebanyak 17.504 pulau dan merupakan pantai terpanjang kedua di dunia setelah Kanada dari 198 negara dan 55 wilayah di dunia yaitu sekitar 81.000 km (Hamka et al., 2019). Indonesia juga merupakan salah satu negara maritim terbesar di dunia yang mempunyai berbagai macam biota laut yang potensial mengandung senyawa bioaktif dan tidak dimiliki oleh biota darat. Sekitar 75% wilayah kedaulatan Indonesia merupakan laut, sehingga negara Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah. Keanekaragaman biota laut tersebut sangat bervariasi sehingga disebut juga negara yang memiliki keanekaragaman tertinggi di dunia atau "*Mega diversity in the World*" (Mulawarmanti et al., 2019).

Keanekaragaman biota laut yang dimiliki Indonesia sangat bervariasi, memiliki potensi sebagai bahan dasar untuk obat-obatan seperti yang bersumber dari spons, molusca, bryozoa, ascidians, dan lain-lain. Salah satu biota laut yang potensial tersebut sebagai bahan obat yaitu *Ascidians* yang berdasarkan variasi kelasnya dikelompokkan dalam beberapa kelas yaitu kelas Apendicuata (Larvacea), Thaliacea, Sorbeacea, Didemnidae, Polyclinidae, Polycitoridae dan Ascidiacea. Ascidians merupakan avertebrata laut yang termasuk dalam subfilum Urochordata yang banyak berkontribusi terhadap stabilitas ekosistem laut karena berfungsi sebagai bioindikator untuk menilai kualitas air, bagian dari rantai makanan, mangsa bagi banyak hewan laut dan merupakan komponen biota laut penyusun terumbu karang (Ayuningrum et al., 2019; Rompas et al., 2022; Palit et al., 2022). Ascidians mewakili ekosistem laut yang paling melimpah dan telah dilaporkan 3.000 species memiliki habitat yang heterogen yaitu dari perairan laut dangkal hingga laut dalam dengan senyawa bioaktif yang bervariasi dan khas (Casertano et al., 2020). Ascidians tersebut mempunyai banyak kelompok species diantaranya yaitu *Rhopalaea sp*, *Clavelina sp*, *Eudistoma sp*, *Phlebobranch sp*, *Atrialum robustum* Kott, *Didemnum membranaceum* Sluiter, *Didemnum molle*, *Diplosoma sp*, *Eudistosma sp*, *Lissoclium sp*, *Phallusia Arabica* Savigny, *Polycarpa aurata* dan lain-lain (Macpal et al., 2019; Palit et al., 2022). Keanekaragaman dari ascidians tersebut memberi peluang untuk memanfaatkan senyawa-senyawa aktif dari biota laut sebagai sumber pengobatan salah satunya adalah pengobatan terhadap penyakit infeksi. Tingkat keanekaragaman hayati laut hingga saat ini belum seutuhnya diketahui secara pasti khususnya wilayah laut yang dalam (Kadariusman et al., 2019). Bahan alam laut yang dihasilkan sebagai sumber senyawa bioaktif dapat berasal dari inangnya sendiri dan dari mikroba simbiosis atau interaksi mikroba dengan inang yang berperan penting dalam pengembangan bahan obat dan penyembuhan berbagai penyakit (Cragg et al., 2013).

Pencarian senyawa bioaktif saat ini diarahkan ke komunitas mikroorganisme pada jaringan Ascidians sebagai mikroba simbiosis. Mikroorganisme laut telah memberi kontribusi pada sebagian besar senyawa bioaktif karena dapat menghasilkan senyawa metabolit yang sama seperti inangnya. Bakteri mampu berkembang lebih cepat sehingga senyawa bioaktif dapat diproduksi dengan lebih mudah, cepat dan banyak daripada mengkultur Ascidians itu sendiri (Rua et al., 2014). Pencarian senyawa metabolit sebagai senyawa bioaktif disebabkan



nya penyakit infeksi bakteri yang ada di kalangan masyarakat. Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan masyarakat yang sangat penting khususnya di negara yang untuk dilakukan penanganan atau pengobatan. Infeksi ini dapat disebabkan oleh bakteri yang bersifat resisten yang menginvasi tubuh secara sistemik maupun penyakit ini disebabkan oleh bakteri patogen diantaranya *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri patogen lainnya. Tingkat

kematian akibat penyakit infeksi masih relatif besar, setiap tahun penyakit infeksi dapat menyebabkan kematian baik di dunia maupun di Indonesia (WHO, 2014). Penanganan penyakit infeksi dapat dilakukan dengan menggunakan obat antibiotika namun penggunaan antibiotika yang tidak tepat dan tidak terkontrol mengakibatkan timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotika (Murti et al., 2012).

Resistensi antibiotika ini merupakan salah satu masalah kesehatan di masyarakat yang sangat penting untuk diselesaikan. Resistensi antibiotika terjadi ketika bakteri tidak merespon obat untuk membunuhnya. Hal tersebut merupakan tantangan kompleks kesehatan masyarakat global dimana tidak ada strategi sederhana yang akan sukses menyelesaikan munculnya penyebaran organisme penyebab infeksi yang menjadi resisten terhadap antibiotika yang ada (Widayati et al., 2015). Di Indonesia, resistensi bakteri bersifat sporadis, selektif dan tidak berujung sehingga belum dapat diselesaikan secara menyeluruh, hal tersebut sangat dipengaruhi beberapa faktor yang salah satunya oleh perilaku penggunaannya karena penggunaan antibiotika yang tidak tepat, hal ini sangat umum dilakukan terutama di negara-negara berkembang (Nazir et al., 2017). Studi terdahulu menunjukkan tingginya estimasi prevalensi bakteri resisten terhadap antibiotika di Indonesia yaitu untuk Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan estimasi prevalensi kasus resistensinya sebesar 25%-50%, untuk carbapenem-resistant acinetobacter baumannii (CRAB) dengan estimasi prevalensi kasus resistensinya sebesar 50%-60% dan untuk carbapenem-resistant enterobacteriaceae (CRE), estimasi prevalensi kasus resistensinya sebesar 5%-10% (Lee et al., 2018; Hsu et al., 2017).

Dengan adanya permasalahan resistensi antibiotika tersebut, maka diperlukan adanya pencarian antibiotika baru yang bersumber dari biota laut yaitu Ascidians jenis *Polycarpa aurata*. Ascidians merupakan sumber obat yang banyak mengandung metabolit sekunder dengan struktur baru dan bioaktivitas tinggi karena sebagai salah satu hewan laut yang paling produktif secara kimiawi, sekitar 1.200 produk senyawa alami seperti senyawa alkaloid, peptide, poliketida dengan struktur kimia yang rumit dan terbaru telah diidentifikasi. Produk senyawa tersebut diidentifikasi secara struktural dan fungsional tidak hanya berasal dari Ascidiansnya sendiri tetapi juga berasal dari mikroba simbiotiknya. Senyawa alkaloid baru tersebut yaitu mengandung sulfur, polycarpaurin (polycarpaurin A, B dan C), tetracyclic pyridoacridine, pentacyclic pyridoacridines, segoline A, tetrahydro- β -carboline, N-methyl β -carbolinium dan lain-lain (Menna et al., 2011; Dou et al., 2019).

Sebagian besar metabolit sekunder yang dihasilkan oleh Ascidians seperti senyawa alkaloid, peptida, furanon, meroterpen dan turunannya memiliki potensi sebagai antibakteri dan antijamur (Casertano et al., 2020). Senyawa alkaloid turunan tryptamine yaitu leptoclinidamide, senyawa lissoclibadins 1-3, lissoclinotoxins E dan F, 3,4-dimethoxy-6-(20-N,N-dimethylaminoethyl)-5-(methylthio)benzotrithiane, dan N,N-dimethyl-5-(methylthio)-varacin memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa alkaloid lain yaitu polycarpathiamines (A and B) dan 1,2,4-thiadiazole yang diisolasi dari *Polycarpa aurata* menunjukkan sitotoksik yang kuat pada sel kanker limfoma L5187Y dengan nilai IC₅₀ 0,41 μ M. Turunan senyawa peptida yaitu Mollamide B memiliki efek sitotoksik terhadap manusia pada paru-paru no-sel kecil H460, payudara MCF-7 dan sel glioblastoma SF268, sebagai antimalaria terhadap *P. falciparum*, sebagai antiparasit terhadap *Leishmania donovani* dan sebagai antivirus terhadap HIV-1.

kelompok senyawa turunan alkaloid yaitu senyawa polycarpaurine B dan turunan itu ethyl 2-(4-methoxyphenyl)-2-oxoacetate dan methyl 2-(4-hydroxyphenyl)-2- tidak memiliki aktivitas biologi (Izzati et al., 2021).

Senyawa peptida siklik, depsi-peptida dan berbagai jenis alkaloid aromatik merupakan ekunder diperoleh dari Ascidians yang berfungsi sebagai antifouling. Senyawa ini tidak diproduksi oleh ascidians itu sendiri tetapi diproduksi oleh mikroorganisme



endosimbiotik dan senyawa metabolit sekunder tersebut juga memiliki potensi terapeutik seperti antitumor dengan dengan mekanisme aksi (apoptosis, antiangiogenesis, dan antiproliferasi). Kelompok Ascidiaceae yang telah dikembangkan produknya sebagai sediaan obat dan telah disetujui oleh FDA sebagai antikanker untuk dipasarkan yaitu dari jenis *Ecteinascidia turbinata* dengan nama dagang Yondelis® yang mengandung senyawa Ecteinascidin (ET-743, trabectedin) dan jenis *Aplidium albicans* dengan nama dagang Aplidin® (mengandung senyawa dehydridemnin B, plitidepsin) (Watters, 2018).

Dengan beragamnya aktivitas dan metabolit sekunder yang terkandung dalam *Polycarpa aurata*, memungkinkan senyawa bioaktif tersebut berpotensi sebagai antibiofilm. Biofilm ini merupakan kumpulan koloni sel-sel mikroba yang menempel pada suatu permukaan yang dalam sebuah matriks cair terbentuk dari campuran protein, asam nukleat dan polisakarida berbentuk gel kental di sekeliling bakteri. Biofilm dapat melindungi bakteri dari pertahanan tubuh inang dan sel-sel biofilm dapat saling memisahkan diri dan bergabung dengan sistem matriks lainnya. Hal ini menyebabkan sel-sel penyusun biofilm lebih sulit untuk ditekan populasinya dibandingkan dengan bakteri non-biofilm (Jamal, 2015). Biofilm terdiri dari sel-sel mikroba dan extracellular polymeric substance (EPS) dan EPS ini dapat mencakup 50% sampai 90% dari total karbon organik biofilm dan dapat dianggap bahan matriks primer biofilm. Keberadaan biofilm dapat menyebabkan bakteri lebih resisten seperti bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan salah satu bakteri yang dapat membentuk biofilm. Pembentukan biofilm tersebut dapat terjadi melalui 4 tahap yaitu tahap perlekatan sel, quorum sensing (QS), maturasi dan pelepasan (Purbowati, 2016; Homenta, 2016).

Hingga saat ini, eksplorasi dalam pencarian senyawa bioaktif yang berasal dari Ascidiaceae jenis *Polycarpa aurata* telah dilakukan beberapa pengujian aktivitas biologis sebagai alternatif antibiotika baru, akan tetapi aktivitas senyawa bioaktif sebagai antibakteri dan antibiofilm khususnya pada isolat bakteri simbiosis belum dilakukan. Oleh karena itu, diperlukan penelusuran senyawa bioaktif dari bakteri simbiosis *Polycarpa aurata* melalui penelitian tentang pencarian senyawa bioaktif bakteri simbiosis terpilih dari *Polycarpa aurata* sebagai antibakteri dan antibiofilm.



BAB II. ISOLASI, OPTIMASI, DAN ANALISIS MOLEKULER ISOLAT BAKTERI SIMBION *Polycarpa aurata* DARI PULAU BARRANG LOMPO, KOTA MAKASSAR

2.1 Abstrak

Bakteri simbion merupakan bakteri yang hidup dan berinteraksi pada inang yang sifatnya simbiosis mutualisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menganalisis isolat bakteri simbion dari *Polycarpa aurata* berwarna kuning, putih dan biru di Pulau Barrang Lompo, kota Makassar berdasarkan analisis morfologi secara makroskopik dan mikroskopik, optimasi pertumbuhan secara fermentasi menggunakan variasi nutrisi sumber nitrogen (ekstrak beef, pepton, tripton dan ekstrak yeast), aktivitas antibakteri secara difusi agar dan analisis molekuler secara *polymerase chain reaction* (PCR). Hasil isolasi bakteri simbion diperoleh 24 isolat dan hasil pemurnian diperoleh 17 isolat murni (5 isolat *Polycarpa aurata* berwarna kuning, 4 isolat *Polycarpa aurata* berwarna putih dan 8 isolat *Polycarpa aurata* berwarna biru). Hasil pemeriksaan makroskopik menunjukkan bahwa 17 isolat memiliki karakteristik morfologi yang berbeda-beda berdasarkan evaluasi koloni yaitu bentuk, tepi, elevasi dan warna. Karakteristik morfologi isolat secara makroskopik dan mikroskopik diperoleh morfologi yang berbeda-beda. Analisis aktivitas antibakteri isolat bakteri simbion berdasarkan waktu optimasi pertumbuhan isolat bakteri simbion *Polycarpa aurata* (isolat AQ3-1, AQ3-2, AQ3-3, AQ3-5, AL3-5 dan AQ2-1) memiliki aktivitas terhadap 10 bakteri uji dengan diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633 sebesar 37,27 mm pada isolat AQ2-1 dengan waktu optimasi produksi metabolit sekunder pada jam ke 68. Hasil analisis molekuler berdasarkan sekuensing 16S rRNA dari ke 5 isolat bakteri simbion menunjukkan bahwa isolat AQ3-1, AQ3-2, AQ3-3 merupakan strain bakteri *Bacillus licheniformis*, isolat AQ3-5 merupakan strain bakteri *Paenibacillus alvei*, isolat AL3-5 dan AQ2-1 merupakan strain bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan tingkat keragaman species hasil BLAST 99.4%. Sehingga *Polycarpa aurata* terdapat bakteri simbion yang dapat menghasilkan metabolit sekunder berdasarkan waktu optimal pada setiap strain bakteri simbion.

Kata Kunci: *Polycarpa aurata*, Bakteri Simbion, Optimasi, Antibakteri, Strain Bakteri



Type of Manuscript: *Research*

Isolation, Optimization and Molecular Analysis of Symbiont Bacteria Isolates *Polycarpa aurata* (Quoy & Gaimard 1834) From Barrang Lompo Island, Makassar City

Herwin^{1,5}, Gemini Alam^{2*}, Sartini⁴, Nurhasni Hasan³, Abdul Rahim², Herlina Rante⁴, Risfah Yulianty³, Latifah Rahman³

¹Pharmaceutical Sciences Doctoral Student, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia.

²Laboratory of Pharmacognosy-Phytochemistry, Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia.

³Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia.

⁴Laboratory of Microbiology, Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia.

⁵Laboratory of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, 90231, Indonesia.

*Corresponding author:

Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, South Sulawesi, Indonesia.

E-mail address: daengta007@yahoo.com

Tel: +62 811-464-265

ABSTRACT

Symbiont bacteria, living in mutualistic relationships with their hosts, produce secondary metabolites acting as bioactive compounds. This study aims to isolate and analyze symbiont bacterial isolates from different color variants of *Polycarpa aurata* (yellow, white, and blue) in Barrang Lompo Island, Makassar city for their antibacterial properties. Isolation of symbiont bacteria of *Polycarpa aurata* using the spreading method on the surface of Nutrien Agar medium. *Polycarpa aurata* was isolated symbiont bacteria and characterized based on morphological analysis by macroscopic and microscopic, antibacterial activity by agar diffusion against pathogenic bacteria, molecular analysis by polymerase chain reaction (PCR), and growth optimization of isolates by fermentation based on variations in nitrogen source nutrients (beef extract, peptone, tryptone and yeast extract). The result of isolation obtained 24 isolates of symbiont bacteria *Polycarpa aurata* and purified to obtained 17 pure isolates (5 isolates of yellow-coloured *Polycarpa aurata*, 4 isolates of white and 8 isolates of blue). The morphological characteristics of the isolates were examined macroscopically and microscopically, different morphologies are obtained. Activity analysis of twenty-four bacterial isolates were obtained, with significant antibacterial activity in the blue variants. Molecular analysis of symbiont bacteria isolates was performed through 16S rRNA sequencing, identified as *Bacillus licheniformis* strain (for isolate codes AQ3-1, AQ3-2, AQ3-3), *Paenibacillus alvei* strain (for isolate code AQ3-5), and *Pseudomonas aeruginosa* strain R20 and AB18 (for isolate codes AL3-5). The result of optimization growth of the symbiont bacteria isolates of *Polycarpa aurata*, showed that AQ3-1 and AL3-5 isolate obtained the optimization time for secondary metabolites production at 30 hours, AQ3-2 isolate at 22 hours, AQ3-3 isolate at 34 hours, and AQ3-5 isolates at 32 hours. Antibacterial activity of secondary metabolites of symbiont bacteria isolates based on variation in optimization time, obtained the largest inhibition zone diameter in AQ3-1 isolate of 23.80 mm against *Vibrio cholerae* ATCC 25175.

Keywords: *Polycarpa aurata*, Symbiont bacteria, Growth optimization, Molecular analysis, Antibacterial



BAB III. AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ISOLASI SENYAWA BIOAKTIF ISOLAT BAKTERI SIMBION *Polycarpa aurata* DARI PULAU BARRANG LOMPO, MAKASSAR, INDONESIA

3.1 Abstrak

Polycarpa aurata (Quoy & Gaimard, 1834) merupakan biota laut yang memproduksi metabolit sekunder dari mikroorganisme simbiotik dengan potensi terapeutik seperti antitumor dan antimikroba. *Polycarpa aurata* di isolasi bakteri simbion diperoleh isolat AQ2-1, dan diproduksi metabolit sekunder secara fermentasi hingga diperoleh ekstrak etil asetat fermentat AQ2-1. Ekstrak etil asetat di isolasi senyawa bioaktif secara kromatografi radial dan kromatografi lapis tipis preparatif hingga diperoleh isolat 1 dan isolat 2. Analisis struktur menggunakan spektroskopi UV-Vis, resonansi magnetic nuklir 1D dan 2 D, dan spektroskopi massa, struktur isolat tersebut menunjukkan senyawa adenin riboside (isolat 1), memiliki $\lambda_{\max}$ 242 nm, 10 atom C, 13 atom H, 5 atom N, 4 atom O dengan rumus molekul $C_{10}H_{13}N_5O_4$, $[M]^+$ 267 m/z dan senyawa Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate (isolat 2), memiliki rumus $\lambda_{\max}$ 218 nm, 24 atom C, 38 atom H, 4 atom O dengan rumus molekul $C_{10}H_{13}N_5O_4$, $[M]^+$ 390 m/z. Berdasarkan analisis aktivitas biologi senyawa 1 dan 2 secara KLT-Bioautografi, senyawa ini aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* ATTC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786, *Shigella dysenteriae*, dan *Vibrio cholerae* ATCC 25175.

Kata Kunci: Antibakteri, senyawa kimia, Isolat AQ2-1 Bakteri Simbion, *Polycarpa aurata*



Antibacterial activity and bioactive compounds of symbiotic bacterial isolates from *Polycarpa aurata* in Barrang Lompo Island, Makassar

HERWIN^{1,7,♥}, GEMINI ALAM^{2,3,♥♥}, SARTINI⁴, NURHASNI HASAN⁴, ABDUL RAHIM³,
HERLINA RANTE⁴, RISFAH YULIANTI⁵, LATIFAH RAHMAN⁶

¹Doctoral Program of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Universitas Hasanuddin. Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245, South Sulawesi, Indonesia. Tel.: +62-411-588556, Fax.: +62-411-590663, ♥email: herwin.herwin@umi.ac.id

²Drug Discovery and Development Center, Institute for Research and Community Service, Universitas Hasanuddin. Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245, South Sulawesi, Indonesia. Tel.: +62-411-587032, ♥email: daengta007@yahoo.com

³Laboratory of Pharmacognosy-Phytochemistry, Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Universitas Hasanuddin. Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245, South Sulawesi, Indonesia

⁴Laboratory of Microbiology, Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Universitas Hasanuddin. Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245, South Sulawesi, Indonesia

⁵Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Universitas Hasanuddin. Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245, South Sulawesi, Indonesia

⁶Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Universitas Hasanuddin. Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245, South Sulawesi, Indonesia

⁷Laboratory of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia. Jl. Urip Sumoharjo Km. 05, Makassar 90231, South Sulawesi, Indonesia

Manuscript received: 26 January 2025. Revision accepted: 9 May 2025.

Abstract. Herwin, Alam G, Sartini, Hasan N, Rahim A, Rante H, Yulianti R, Rahman L. 2025. Antibacterial activity and bioactive compounds of symbiotic bacterial isolates from *Polycarpa aurata* in Barrang Lompo Island, Makassar. *Biodiversitas* 26: 2339-2354. *Polycarpa aurata* (Quoy & Gaimard, 1834) is a marine organism capable of producing secondary metabolites from its symbiont microorganism and has therapeutic potential, such as antitumor and antimicrobial. *Polycarpa aurata* isolated from the symbiont bacteria obtained the AQ2-1 isolate, and secondary metabolites were produced through fermentation to obtain the AQ2-1 fermented ethyl acetate extract. The ethyl acetate extract was a bioactive compound isolated using radial chromatography and preparative thin-layer chromatography to obtain isolate 1 and isolate 2. Using ultraviolet-visible spectroscopy analysis, one-dimensional and two-dimensional nuclear magnetic resonance, and mass spectroscopy, the structure of the compound showed an adenine riboside compound (isolate 1), which has a λ max of 242 nm, 10 carbon atoms, 13 hydrogen atoms, 5 nitrogen atoms, 4 oxygen atoms, and molecular formula of $C_{10}H_{13}N_5O_4$, m/z 267, and Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate (isolate 2), which has a λ max of 218 nm, 24 carbon atoms, 38 hydrogen atoms, 4 oxygen atoms, and a molecular formula of $C_{24}H_{38}O_4$, m/z 390. Based on an analysis of the biological activity of compounds 1 and 2 using bioautography thin-layer chromatography, these compounds were found to be active against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786, *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and *Vibrio cholerae* ATCC 25175 bacteria.

Antibacterial, chemical compound, isolate AQ2-1 symbiont bacteria, *Polycarpa aurata*



BAB IV. AKTIVITAS ANTIBIOFILM DAN ANTIBAKTERI SENYAWA ADENIN RIBOSIDE DAN BIS(2-ETHYLHEXYL) BENZENE-1,2-DICARBOXYLATE ISOLAT AQ2-1 BAKTERI SIMBION *Polycarpa aurata* DARI PULAU BARRANG LOMPO – MAKASSAR

4.1 Abstrak

Bakteri simbion *Polycarpa aurata* menghasilkan metabolit sekunder sebagai senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri, antikanker, antijamur dan antiprotozoal. Metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat isolat fermentat AQ2-1 adalah Adenin riboside dan Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate dilakukan analisis aktivitas antibakteri secara Difusi Agar dan aktivitas antibiofilm secara *Elisa Reader*. Hasil aktivitas antibakteri secara Difusi Agar diperoleh diameter zona hambat terbesar ekstrak etil asetat terhadap bakteri *Vibrio cholerae* ATCC 25175 sebesar 13.2 mm, fraksi 1 terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 sebesar 10.8 mm, fraksi 5 terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 12.9 mm, senyawa adenin riboside terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 12.2 mm, dan senyawa Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 sebesar 10.8 mm. Hasil analisis aktivitas antibiofilm diperoleh % penghambatan terbesar ekstrak etil asetat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 sebesar 77.191%, fraksi 1 terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 69.434 %, fraksi 5 terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar 73.795 % mm, senyawa adenin riboside terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 77.089 %, dan senyawa Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 sebesar 73.606 %. Hasil analisis aktivitas antibakteri diperoleh diameter zona hambat terbesar ekstrak etil asetat terhadap bakteri *Vibrio cholerae* ATCC 25175 sebesar 13.2 mm, fraksi 1 terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 sebesar 10.8 mm, fraksi 5 terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 12.9 mm, senyawa adenin riboside terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 12.2 mm dan senyawa Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 10.8 mm. Sehingga metabolit sekunder isolat AQ2-1 dari bakteri simbion *Polycarpa aurata* memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm.

Kata Kunci: Bakteri Simbion *Polycarpa aurata*, Adenin Riboside, Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate, Antibakteri, Antibiofilm



BAB V. ANALISIS METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIBIOFILM EKSTRAK ETANOL ISOLAT BAKTERI SIMBION *Polycarpa aurata* DARI PULAU BARRANG LOMPO, KOTA MAKASSAR

5.1 Abstrak

Polycarpa aurata merupakan biota laut dari golongan ascidians mengandung senyawa bioaktif golongan alkaloid polycarpaurin A, B dan C, tetracyclic pyridoacridine, pentacyclic pyridoacridines, segoline A, golongan peptide yang bermanfaat sebagai antikanker, antibakteri dan antiinflamasi. Produksi metabolit sekunder dengan variasi nutrisi sumber nitrogen (ekstrak beef, pepton, tripton dan ekstrak yeast) dilakukan secara fermentasi, analisis golongan senyawa kimia secara GC-MS, analisis aktivitas antibakteri secara Difusi Agar antibiofilm secara *Elisa*. Produksi metabolit sekunder isolat bakteri simbion *Polycarpa aurata* dengan kode isolat AQ2-1 diperoleh bobot ekstrak etanol terbanyak adalah dengan nutrisi tripton seberat 128,9 mg. Analisis senyawa kimia secara spektroskopi GC-MS ekstrak etanol isolat AQ2-1 mengandung 130 golongan senyawa kimia dan terdapat 14 golongan senyawa dengan puncak tertinggi yaitu 2-Amino-1,3-propanediol ($C_3H_9NO_2$, BM=91), 2-Propenoic acid ($C_4H_6O_2$,86), 2-Furancarboxaldehyde (C_5H_4O ,96), 3(2H)-Furanone ($C_{13}H_{22}O_2$,210), 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- ($C_6H_8O_4$,144), 5-Hydroxymethylfurfural ($C_6H_6O_3$,126), Beta-D-Glucopyranose ($C_6H_{10}O_5$, 162), Hexadecanoic acid ($C_{17}H_{34}O_2$,390), 9-Octadecenoic acid (Z)- ($C_{19}H_{36}O_2$,296), 12-cis-octadecadienoate ($C_{19}H_{34}O_2$, 294), cis-10-Nonadecenoic acid ($C_{20}H_{38}O_2$,310), Bis(2-Ethylhexyl)ester ($C_{22}H_{42}O_4$,370), 1,2-Benzenedicarboxylic Acid ($C_{20}H_{30}O_4$,334) dan 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- ($C_{30}H_{50}$,410). Hasil analisis aktivitas antibakteri ekstrak etanol isolat AQ2-1 secara difusi agar aktif terhadap bakteri bakteri *Eschericia coli* dengan diameter zona hambar terbesar = 13,60 mm dan analisis aktivitas antibiofilm secara *Microplate Reader* menggunakan kosentrasi 1280 ppm, 640 ppm, 320 ppm, 160 ppm, 80 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, dan 1 ppm diperoleh % penghambatan = 5,92 % terhadap bakteri *Salmonella thypi* NCTC 786.

Kata kunci: Isolat AQ2-1 Bakteri Simbion, Ekstrak Etil Asetat, GC-MS, Antibakteri, Antibiofilm



Analysis of Secondary Metabolites and Antibiofilm Activity of Ethanol Extract Symbiont Bacteria Isolate from *Polycarpa aurata* In Barrang Lompo Island, Makassar City

Herwin^{1,6}, Gemini Alam^{2,3*}, Sartini⁵, Nurhasni Hasan⁴, Abdul Rahim⁴,
Herlina Rante⁵, Risfah Yulianty⁴, Latifah Rahman⁴

¹Pharmaceutical Sciences Doctoral Student, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia

²Drug Discovery and Development Center, Institute of Research and Community Service, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia

³Laboratory of Pharmacognosy-Phytochemistry, Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia

⁴Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia

⁵Laboratory of Microbiology, Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia

⁶Laboratory of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, 90231, Indonesia

Abstract

Background: *Polycarpa aurata* is a marine biota from the ascidians contain bioactive compounds from the alkaloid group such as polycarpaurin A, B dan C, tetracyclic pyridoacridine, pentacyclic pyridoacridines, segoline A, golongan peptide useful as anticancer, antiinflammatory and antibacterial.

Materials and Methods: Production of secondary metabolites with a variety of nitrogen source nutrients (beef extract, peptone, tryptone and yeast extract) by fermentation, analysis of chemical compounds groups by GC-MS, analysis of antibiofilm activity by Elisa Reader.

Results: The result of secondary metabolites production from isolate symbiont bacteria *Polycarpa aurata* based on variations nitrogen source nutrients (tryptone, beef extract, yeast extract, peptone) obtained the heaviest weight is ethanol extract of AQ2-1 isolate with tryptone nutrition = 128.9 mg. Analysis of chemical compounds by GC-MS spectroscopy of ethanol extract AQ2-1 isolate is contains 130 groups of chemical compounds and there are 14 groups of compounds with the highest peaks, namely 2-Amino-1,3-propanediol ($C_3H_9NO_2$, BM=91), 2-Propenoic acid ($C_4H_6O_2$,86), 2-Furancarboxaldehyde (C_5H_4O ,96), 3(2H)-Furanone ($C_{13}H_{22}O_2$,210), 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- ($C_6H_8O_4$,144), 5-Hydroxymethylfurfural ($C_6H_6O_3$,126), Beta-D-Glucopyranose ($C_6H_{10}O_5$, 162), Hexadecanoic acid ($C_{17}H_{34}O_2$,390), 9-Octadecenoic acid (Z)- ($C_{19}H_{36}O_2$,296), 12-cis-octadecadienoate ($C_{19}H_{34}O_2$, 294), cis-10-Nonadecenoic acid ($C_{20}H_{38}O_2$,310), Bis(2-Ethylhexyl)ester ($C_{22}H_{42}O_4$,370), 1,2-Benzenedicarboxylic Acid ($C_{20}H_{30}O_4$,334) and 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- ($C_{30}H_{50}$,410). The result of analysis antibiofilm activity by Elisa Reader using concentration 1280 ppm, 640 ppm, 320 ppm, 160 ppm, 80 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, and 1 ppm obtained % inhibisi the largest against Gram-positive bacteria group at concentration 1280 ppm = 78.01%, namely against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 bacteria and Gram-negative bacteria group = 56.83%, namely against *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bacteria.

Conclusion: Based on the result of secondary metabolites analysis from ethanol extract AQ2-1 isolate of colour-ec-white *Polycarpa aurata* contains chemical compounds with antibiofilm activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Key Word: Symbiont Bacteria AQ2-1 Isolate, *Polycarpa aurata*, GC-MS, Antibiofilm

Date of Submission: 22-04-2025

Date of Acceptance: 02-05-2025

