

**UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR TUNIKATA
Polycarpa aurata TERHADAP BAKTERI
Vibrio parahaemolyticus DAN *Vibrio harveyi***

SKRIPSI

DWI NINING LESTARI



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**UJI BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR TUNIKATA
Polycarpa aurata TERHADAP BAKTERI
Vibrio parahaemolyticus DAN *Vibrio harveyi***

**DWI NINING LESTARI
L111 16 005**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

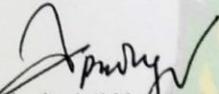
HALAMAN PENGESAHAN

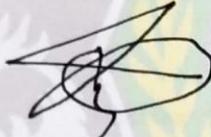
Judul Skripsi : Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Tunikata *Polycarpa aurata* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Dan *Vibrio harveyi*
Nama Mahasiswa : Dwi Nining Lestari
Nomor Pokok : L111 16 005
Program Studi : Ilmu Kelautan

Skripsi telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Ir. Arniati Massinai, M.Si
NIP. 196606141991032016


Prof. Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si
NIP. 196512091992021001

Mengetahui,

Dekan
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan,

Ketua Program Studi
Ilmu Kelautan,



Dr. Ir. St. Aisjah Farhum, M.Si
NIP. 196906051993032002



Dr. Ahmad Faizal, ST., M.Si
NIP. 197507272001121003

Tanggal Lulus: 24 November 2020

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Nining Lestari
NIM : L111 16 005
Program Studi : Ilmu Kelautan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan bahwa Skripsi dengan Judul: "Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Tunikata *Polycarpa aurata* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Dan *Vibrio harveyi*" ini adalah karya penelitian saya sendiri dan bebas plagiat, serta tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali secara tertulis digunakan sebagai acuan dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber acuan serta daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam karya ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan (Permendiknas No. 17, tahun 2007).

Makassar, 24 November 2020



Dwi Nining Lestari,
L111 16 005

PERNYATAAN AUTHORSHIP

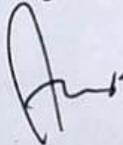
Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dwi Nining Lestari
NIM : L111 16 005
Program Studi : Ilmu Kelautan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan bahwa publikasi sebagian atau keseluruhan isi Skripsi/Tesis/Disertasi pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin dan menyertakan tim pembimbing sebagai author dan Universitas Hasanuddin sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya dua semester (satu tahun sejak pengesahan Skripsi) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan Skripsi ini, maka pembimbing sebagai salah seorang dari penulis berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian, sepanjang nama mahasiswa tetap diikutkan.

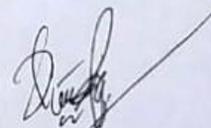
Makassar, 24 November 2020

Mengetahui,
Ketua Program Studi,



Dr. Ahmad Faizal, ST., M.Si
NIP.19750727 200112 1 003

Penulis



Dwi Nining Lestari
L111 16 005

ABSTRAK

DWI NINING LESTARI. L111 16 005. “Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Tunikata *Polycarpa aurata* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Dan *Vibrio harveyi*” dibimbing oleh **Arniati Massinai** sebagai Pembimbing Utama dan **Abdul Haris** sebagai Pembimbing Anggota.

Tunikata atau *sea squirts* merupakan ascidian dari subfilum urochordata telah dikembangkan sebagai salah satu sumber *natural product* yang diaplikasikan dalam kegiatan biomedis seperti sebagai antibakteri, antitumor dan antikanker. Salah satu jenis tunikata yang potensial menghasilkan senyawa bioaktif yaitu *Polycarpa aurata*. Penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi ekstrak *Polycarpa aurata* sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen udang *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* serta menganalisis golongan senyawa bioaktif yang dikandungnya. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari – Juli 2020. Sampel *Polycarpa aurata* diperoleh dari perairan Pulau Barranglompo, Kota Makassar. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi secara bertingkat dengan pelarut n-heksan (nonpolar) dan etanol (polar). Hasil ekstraksi menunjukkan rendemen ekstrak n-heksan sebesar 1,6% dan ekstrak etanol sebesar 2,21%. Uji aktivitas antibakteri dengan metode *disc diffusion (Kirby Bauer Test)*. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar *Polycarpa aurata* diperoleh rata-rata zona bening pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (n-heksan: $0,73 \pm 0,50$, etanol: $4,21 \pm 1,45$) dan bakteri *Vibrio harveyi* (n-heksan: $1,24 \pm 0,89$, etanol: $6,69 \pm 3,22$). Ekstrak n-heksan *Polycarpa aurata* menunjukkan adanya potensi antibakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* dengan kategori lemah. Sedangkan ekstrak etanol *Polycarpa aurata* menunjukkan aktivitas antibakteri kategori lemah pada *Vibrio parahaemolyticus* dan kategori sedang terhadap *Vibrio harveyi*. Pengujian golongan senyawa bioaktif pada ekstrak kasar *Polycarpa aurata* menunjukkan adanya senyawa flavonoid, tanin, steroid/terpenoid, alkaloid dan saponin.

Kata kunci: antibakteri, *Polycarpa aurata*, senyawa bioaktif, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*

ABSTRACT

DWI NINING LESTARI. L111 16 005. "Antibacterial Bioactivity Test of *Polycarpa aurata* Tunikata Crude Extract Against *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* bacteria" supervised by **Arniati Massinai** as the principle supervisor and **Abdul Haris** as the co-supervisor

Tunikata or sea squirts are ascidians of the Urochordata subphylum, which have successfully developed as a source of natural products applied in biomedical activities such as antibacterial, anti-tumor, and anti-cancer. One species of Tunikata that has the potential to produce bioactive compounds is *Polycarpa aurata*. This study aims to explore the possibility of *Polycarpa aurata* extract as an antibacterial against the pathogenic shrimp bacteria *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* and to analyze the bioactive compounds they contain. This research was conducted in February - July 2020. The *Polycarpa aurata* samples were obtained from Barranglompo Island waters, Makassar City. The extraction process was carried out by the maceration method in stages in n-hexane (nonpolar) and ethanol (polar) solvents. The extraction results showed the yield of n-hexane extract was 1.6%, and ethanol extract was 2.21%. Antibacterial activity test using the disc diffusion method (Kirby Bauer Test). Antibacterial activity of crude extract the *Polycarpa aurata* resulted in an average inhibitor zone in *Vibrio parahaemolyticus* bacteria (n-hexane: 0.73 ± 0.50 , ethanol: 4.21 ± 1.45) and *Vibrio harveyi* bacteria (n-hexane: $1, 24 \pm 0.89$, ethanol: 6.69 ± 3.22). The *Polycarpa aurata* n-hexane extract showed a weak antibacterial potential against the *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi*. Meanwhile, the ethanol extract of *Polycarpa aurata* showed weak antibacterial activity in the *Vibrio parahaemolyticus* and moderate category against the *Vibrio harveyi*. Testing of the bioactive compounds in the crude extract of *Polycarpa aurata* showed flavonoids, tanins, steroids/terpenoids, alkaloids and saponins.

Keywords: antibacterial, *Polycarpa aurata*, bioactive compounds, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT. yang telah memberikan nikmat tiada berujung dan sholawat serta salam kepada Rosulullah SAW. sebagai suri tauladan seluruh manusia. Dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini, penulis mendapat banyak bantuan dan dukungan moril maupun materil dari berbagai pihak, oleh karenanya izinkan penulis menyampaikan ungkapan terimakasih kepada:

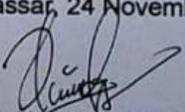
1. Ayahanda dan Ibunda tercinta, Musriono dan Mila Wardhani, yang selalu mendoakan, mendidik dan mengarahkan penulis untuk menjadi pribadi yang bertaqwa dan melakukan versi terbaiknya dalam setiap aspek kehidupan. Ungkapan terimakasih juga penulis haturkan kepada saudara dan saudari tersayang, Eko Pramono dan Nurfadhillah Wahid selalu mendoakan, memberikan semangat dan selalu pengertian kepada penulis. Ungkapan terimakasih tidak luput kepada ponakan tersayang Zayn Aqsha Pramono yang memberikan kebahagiaan dengan tingkah lucunya yang menghibur penulis.
2. Dr. Ir. Arniati Massinai, M.Si selaku pembimbing pertama yang telah memberikan nasehat, arahan, dukungan selama perkuliahan hingga terselesainya penulisan skripsi. Prof. Dr. Ir. Abdul Haris, M.Si selaku penasehat akademik, pembimbing pendamping skripsi, pembimbing kompetisi yang selalu sabar dalam mengingatkan dan mengarahkan penulis selama menjadi mahasiswa.
3. Dr. Ir. Muh. Farid Samawi, M.Si dan Drs. Sulaiman Gosalam, M.Si selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Dosen Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, terkhusus kepada Bapak dan Ibu dosen dari Departemen Ilmu Kelautan yang telah berbagi ilmu yang sangat berharga kepada penulis selama menempuh pendidikan.
5. Huyyirnah, SP. M.Si sebagai laboran Mikrobiologi Laut yang telah memberikan banyak pengarahan dan nasehat selama menjalankan penelitian.
6. Seluruh staf Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan yang telah membantu dalam kelengkapan dokumen administrasi selama kuliah maupun penyelesaian skripsi.
7. Penelitian Dosen Penasehat Akademik (PDPA) bersama Prof. Dr. Ir. Abdul Haris M.Si yang telah memberikan banyak bantuan baik moril maupun materil.
8. Keluarga mahasiswa Ilmu Kelautan (KEMA JIK FIKP UH), Kabinet Bahari 2018-2019, Keluarga besar Unit Kegiatan Mahasiswa Keilmuan dan Penalaran Ilmiah

Universitas Hasanuddin (UKM KPI UNHAS), Kabinet Mengabdi 2018, Kabinet Semangat Bersatu 2019, Divisi Pengembangan Sumber Daya Manusia UKM KPI Unhas 2018-2019, GEMAH FIKP Unhas 2018, ATHENA 16, KAMMI Komisariat Unhas, teman-teman KKN DSM Bantaeng Desa Lumpangang, Dewan Konsultatif UKM KPI Unhas 2020, Pengurus inti Go International 2019, teman-teman Nona, teman-teman "LPDP Hunter", teman-teman "Scholarship Hunter", teman-teman PARASIT, teman-teman Sarjana 2020, teman-teman Genks, teman-teman "Camping Tanralili", dan Tim Lomba. Terimakasih atas doa dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis bisa selalu termotivasi untuk menjadi mahasiswa yang mampu menggali dan mengembangkan potensi diri.

9. Teman-teman dari berbagai daerah, organisasi, komunitas, grup, lomba, instansi, kelompok penelitian, dan dari berbagai wadah pengembangan diri lain, yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis dalam mengembangkan potensi diri.
10. Teman-teman yang telah membantu secara khusus untuk terlaksananya penelitian dan penulisan skripsi ini, terimakasih kepada: Permatasari, Yuliana, Dwi Rahmadani, Agustina, Rayni Mayra, Devi Yulianti, Indah Ratna, Rina Aflinda, Naufal Miftahul, Lely Nur Wijaya, Diki Darmawan, Meggy Yolanda, Alm. St. Nurainun, Tri Rezky, Muh. Irfan, Asrul, Rizky Madjid, Sahlan, Ichsan, Septian F.M, David R, Mukarramah, Abdul Gafur, Fajriansyah N, Nur Afni, A.H Nyompa, dan Khoirul Zaman.
11. Supporter dan ruang berbagi Priska Hande, Rasdiana Iyan, Wahyu Dian, Ragil M.S, Fismatman Ruli, Vietgar Membalik, Khusnul Fatimah, Erwin Syam, Rio M, Kasnita, Farahdiba, Delfiana dan Widyaani.
12. Semua pihak yang namanya luput disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala bentuk doa dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.

Semoga Allah SWT. selalu memberikan anugerah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari masih ada kekurangan dalam penulisan ini. Penulis berharap bahwa hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat dan kontribusi kepada semua pihak yang membutuhkan.

Makassar, 24 November 2020


Dwi Nining Lestari

KATA PENGANTAR

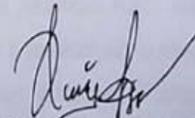
Alhamdulillah puji syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT. karena atas berkah, rahmat, hidayah dan karuniaNya yang telah diberikan sehingga skripsi yang berjudul "Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Tunikata *Polycarpa aurata* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*" ini dapat terselesaikan dengan baik. Shalawat dan salam juga penulis panjatkan kepada baginda Nabi besar Muhammad SAW. yang menjadi suri tauladan bagi seluruh manusia.

Karya ilmiah ini diharapkan dapat menjadi salah satu bahan bacaan atau rujukan dalam mempelajari bahan alam laut terutama bagi yang akan penelitian atau yg lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antibakteri ekstrak *Polycarpa aurata* terhadap bakteri patogen udang yaitu bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*. Senyawa bioaktif dari organisme ini diperoleh dengan ekstraksi dan dilakukan identifikasi golongan senyawa yang dikandungnya. Potensi senyawa bioaktif *Polycarpa aurata* ini telah dibuktikan sebagai salah satu *marine natural product* yang dapat dimanfaatkan dalam bidang bioprospecting untuk kepentingan kehidupan kedepannya.

Penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan. Namun penulis berharap dapat memberikan manfaat kepada pihak-pihak yang membutuhkannya.

Makassar, 24 November 2020

Penulis,



Dwi Nining Lestari

BIODATA PENULIS



Dwi Nining Lestari, anak bungsu dari dua bersaudara lahir di Mangkutana pada tanggal 3 Oktober 1997 dari pasangan Musriono dan Mila Wardhani. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di SD 147 Wonorejo pada tahun 2004-2010, SMP Negeri 1 Mangkutana pada tahun 2010-2013, SMA Negeri 1 Mangkutana 2013-2016. Pada tahun 2016 penulis diterima sebagai mahasiswa Ilmu Kelautan Universitas Hasanuddin melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis mengikuti beberapa kegiatan kemahasiswaan sebagai upaya pengembangan diri. Penulis menjabat sebagai Bendahara Umum KEMA JIK FIKP-UH Periode 2018-2019, Koordinator Hubungan Masyarakat GEMAH FIKP-UH 2018-2019, Staf PSDM UKM KPI Unhas 2018, Koordinator PSDM UKM KPI Unhas 2019, Mahasiswa Berprestasi (Mawapres) 3 FIKP 2019, Dewan Konsultatif 2020 dan menjadi bagian dari penerima beasiswa Bidikmisi sejak tahun 2016. Penulis aktif menjadi asisten di beberapa mata kuliah yaitu Mikrobiologi Laut, Vertebrata Laut, Parasitologi dan Penyakit Biota Laut, Oseanografi Fisika, dan Botani Laut. Selain itu, penulis mengembangkan diri melalui lomba karya tulis mahasiswa nasional, Program Kreativitas Mahasiswa (PKM), Program Mahasiswa Wirausaha (PMW), mengambil peran dalam beberapa kepanitian nasional, serta melakukan penelitian dan penulisan karya ilmiah yang diterbitkan di JURNAL ABDI pada tahun 2018 dan 2019. Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata Tematik Desa Sejahtera Mandiri Kab. Bantaeng di Desa Lumpangan, Kec. Pajukukkang dan penulis telah melakukan penelitian serta penulisan skripsi dengan judul “Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Tunikata *Polycarpa aurata* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Dan *Vibrio harveyi*” pada tahun 2020.

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iv
PERNYATAAN AUTHORSHIP	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
UCAPAN TERIMAKASIH	viii
KATA PENGANTAR	ix
BIODATA PENULIS	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan dan Kegunaan	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Bioekologi Tunikata <i>Polycarpa aurata</i>	3
1. Klasifikasi <i>Polycarpa aurata</i>	3
2. Morfologi dan Fisiologi <i>Polycarpa aurata</i>	4
3. Ekologi <i>Polycarpa aurata</i>	7
B. Metabolit Sekunder	9
1. Flavonoid	9
2. Tanin.....	10
3. Steroid/triterpenoid	10
4. Alkaloid	10

5.	Saponin.....	11
C.	Metabolit Sekunder Tunikata	11
D.	Ekstraksi	13
1.	Soxhlet.....	14
2.	Maserasi	14
3.	Dekoksi.....	14
4.	Infus	14
5.	Digesti.....	15
6.	Perkolasi.....	15
7.	Sonikasi	15
E.	Bakteri Patogen Udang	15
1.	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	18
2.	<i>Vibrio harveyi</i>	19
F.	Aktivitas Antibakteri	20
III.	METODE PENELITIAN	23
A.	Waktu dan Tempat	23
B.	Alat dan Bahan	24
C.	Prosedur Penelitian	27
1.	Pengambilan Sampel	28
2.	Preparasi Sampel.....	28
3.	Ekstraksi	28
4.	Pengujian Bioaktivitas Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan <i>Vibrio harveyi</i>	29
5.	Skrining Golongan Senyawa Bioaktif <i>Polycarpa aurata</i>	32
D.	Analisis Data.....	34
IV.	HASIL.....	35
A.	Kemampuan Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	35
1.	Karakteristik <i>Polycarpa aurata</i> yang ditemukan di Perairan	35

2.	Rendemen Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	35
3.	Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	36
B.	Kandungan Senyawa Bioaktif Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	38
V.	PEMBAHASAN	39
A.	Kemampuan Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	39
1.	Karakteristik <i>Polycarpa aurata</i> Di Perairan	39
2.	Rendemen Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	40
3.	Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	42
B.	Kandungan Senyawa Bioaktif Ekstrak <i>Polycarpa aurata</i>	44
VI.	KESIMPULAN DAN SARAN	48
A.	Kesimpulan	48
B.	Saran	48
	DAFTAR PUSTAKA	49
	LAMPIRAN	56

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Sifat fisikokimia dari beberapa pelarut yang umum digunakan dalam ekstraksi produk alami	13
2. Alat yang digunakan dalam penelitian	24
3. Bahan yang digunakan dalam penelitian	25
4. Skala <i>Mc Farland</i>	31
5. Kriteria kekuatan ekstrak Davis & Stout (1971)	32
6. Presentase rendemen ekstrak <i>P. aurata</i> dengan dua pelarut yang berbeda yaitu n-heksan dan etanol.....	36
9. Hasil skrining senyawa bioaktif ekstrak n-heksan dan etanol <i>P. aurata</i> dengan metode KLT (penyemprotan)	38

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Struktur dan organ dalam ascidian dewasa	5
2. Beberapa warna tunik pada <i>P. aurata</i> A. Orange tunik, B. Blue tunik, C. White tunik, D. Mixed tunik.	5
3. Reproduksi ascidian.....	6
4. <i>P. aurata</i> yang ditemukan di perairan Pulau Barranglompo	8
5. Perkembangan pencarian senyawa bioaktif ascidian sejak 1994-2014: (a) Studi <i>marine natural product</i> dari ascidian (b) Senyawa kimia dari <i>marine natural product</i> dalam aplikasi biomedis.....	12
6. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif dan Gram positif	16
7. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19
8. Morfologi strain <i>Vibrio harveyi</i> tampak dari mikroskop elektron transmisi sel VIB 645	20
9. Peta lokasi penelitian	23
10. Skema penelitian	27
11. Skema ekstraksi metode maserasi.....	29
12. Morfologi <i>P. aurata</i> yang ditemukan di perairan Barranglompo: (a). <i>Incurrent</i> siphon, (b) <i>Excurrent</i> siphon, (c) Tunik, (d) Substrat	35
13. Zona hambat ekstrak <i>P. aurata</i> terhadap bakteri (A) <i>V. parahaemolyticus</i> dan (B) <i>V. harveyi</i> : (1) Ciprofloxacin, (2) Etanol, (3) Ekstrak Etanol, (4) Ekstrak N-heksan, (5) N-heksan.....	36
14. Diameter zona hambat ekstrak n-heksan, ekstrak etanol <i>P. aurata</i> dan kontrol positif (ciprofloxacin) terhadap bakteri uji <i>V. parahaemolyticus</i> dan <i>V. harveyi</i>	37

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tunikata dikenal dengan sebutan *sea squirts* merupakan ascidian dari subfilum urochordata. Tunikata ini ditemukan pada berbagai kedalaman dan tersebar luas dari perairan tropis hingga perairan kutub (Shenkar & Swalla, 2011). Persebaran tunikata juga sangat luas di Indonesia, pada perairan sekitar pulau Barranglompo ditemukan 33 jenis tunikata (Mawaleda, 2014). Tunikata ini hidup sesil yaitu menempel pada substrat sehingga melakukan mekanisme pertahanan diri dengan memproduksi senyawa bioaktif (metabolit sekunder) untuk mengontrol tempat penempelan, bersaing ruang, mencegah predator dan mikroba patogen. Meskipun dikenal sebagai hewan invasif, tunikata memiliki manfaat bagi manusia seperti sumber protein. Selain itu dinyatakan bahwa ascidian paling banyak dikembangkan untuk *marine natural product* untuk aplikasi biomedis yaitu sebagai antibakteri, antitumor dan antikanker (Lambert *et al.*, 2010; Palanisamy *et al.*, 2017).

Salah satu dari jenis ascidian yang diketahui memiliki kelimpahan yang tinggi dan mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang telah dimanfaatkan secara luas yaitu *Polycarpa aurata*. *P. aurata* mengandung golongan senyawa kimia berupa peptida dan golongan alkaloid berupa polycarpine dan N N-disesmethylgrossularine-1 yang bersifat sitotoksik dan memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Abas *et al.*, 1996; Pham *et al.*, 2013). Pengembangan ekstrak *P. aurata* sebagai antibakteri pernah dilakukan oleh Litaay *et al.* (2017) yaitu diujikan pada bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Penelitian lainnya oleh Manoppo *et al.* (2019) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta *Samonella typhi* yang hasilnya menunjukkan potensi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Potensi senyawa bioaktif dari *Polycarpa aurata* tersebut juga dapat diujikan pada bakteri patogen udang yaitu *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*. Kedua bakteri tersebut menyebabkan gangguan fisiologis yang dapat berujung kematian pada udang. Penelitian yang dilakukan oleh Nasnia (2007) mengemukakan bahwa *Vibrio* sp. menyebabkan mortalitas sebesar 90% pada larva udang windu (*Penaerus monodon*). Bakteri *V. harveyi* dapat menyebabkan kematian massal pada larva udang windu pada stadia zoea, mysis dan awal post larva sehingga apabila *V. harveyi* ini sudah menyerang maka dalam kurun waktu 1-3 hari dapat memusnahkan populasi udang (Purnama *et al.*,

2011). Bakteri patogen udang lainnya yaitu *V. parahaemolyticus* yang dapat menyebabkan keracunan dan gastroesenteritis pada manusia yang mengonsumsi udang yang telah terkontaminasi oleh bakteri tersebut (Oktavianus *et al.*, 2013). Kedua bakteri ini selain mengganggu pertumbuhan dan perkembangan udang juga dapat membahayakan kesehatan manusia sehingga diperlukan upaya penanggulangannya. Upaya penanggulangan yang telah dilakukan untuk mengatasi perkembangan dan penyebaran bakteri patogen ini yaitu dengan penambahan obat kimia dan antibiotik. Namun, penambahan obat sintesis ini dapat menyebabkan bakteri resisten sehingga diperlukan agen antibakteri yang ramah lingkungan sehingga penting dilakukan penelitian ini untuk menggali potensi senyawa bioaktif *P. aurata* sebagai antibakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi*.

B. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui kemampuan ekstrak *Polycarpa aurata* sebagai antibakteri terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*
2. Menganalisis golongan senyawa bioaktif pada ekstrak *Polycarpa aurata*

Sedangkan kegunaannya adalah untuk memberikan informasi dan pengetahuan mengenai golongan senyawa bioaktif ekstrak dan potensi antibakteri ekstrak sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Bioekologi Tunikata *Polycarpa aurata*

1. Klasifikasi *Polycarpa aurata*

Filum Chordata terdiri dari 45.000 spesies yang terdistribusi dalam tiga subfilum yaitu Tunikata (Urochordata), Cephalochordata, dan Vertebrata. Tunikata merupakan hewan laut dari filum chordata dengan yang biasa disebut juga urochordata. Ascidiaceae terdapat sekitar 2300 spesies dengan informasi terbanyak adalah tunikata. Tunikata terdiri dari 3 kelas yaitu; Ascidiaceae (ascidian), Appendicularia (larvacean), Thaliaceae sedangkan menurut McClintock dan Baker (2001) yaitu Ascidiaceae (ascidian), Appendicularia (larvacean), Thaliaceae dan Sorberaceae (sorberacean) (Shenkar & Swalla 2011; Mawaleda, 2014; Cima *et al.*, 2016)

Appendicularia merupakan tunikata yang bersifat hermaphrodit dikenal sebagai larvaceans memiliki tubuh yang tipis, berbentuk oval dengan ekor yang tipis termasuk tunikata yang pelagik. Appendicularia memperoleh makanan dengan menyaring kolom air atau *filter feeder* (Gershwin *et al.*, 2014). Thaliaceae hidup bebas di kolom air (*free swimming*) berkoloni maupun soliter. Kelompok ini memperoleh makanan dengan memompa air. Tubuhnya semi transparan terbuka pada bagian posterior dan tertutup pada anterior (Gershwin *et al.*, 2014). Ascidiaceae memiliki bentuk tubuh yang bulat panjang seperti silinder yang hidup melekat pada substrat. Seperti halnya tunikata lainnya, ascidian memiliki lapisan tubuh yang terbuat dari selulosa atau tunicin. Pada ujung yang tidak melekat pada substrat terdapat satu lubang yang disebut lubang oral. Pada satu sisi dekat ujung bebas terdapat lubang lain yaitu lubang atrial. Pada Ascidian ada hermaphroditisme protogini dengan ovarium dan testis berlekatan, dikelilingi oleh intestinum (Manniot *et al.*, 1991).

Tunikata *Polycarpa aurata* termasuk dalam kelas ascidiacea yang hidup soliter. Klasifikasi *Polycarpa aurata* (Quoy & Gaimard, 1834):

Kingdom: Animalia

Division: Chordata

Subphylum: Tunikata

Class: Ascidiacea

Order: Stolidobranchia

Family: Styellidae

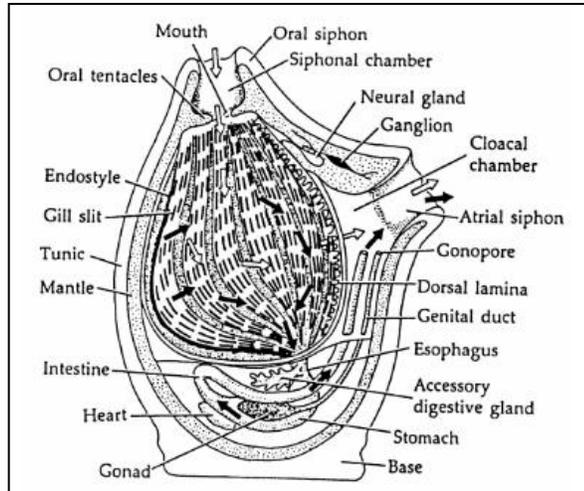
Genus: *Polycarpa*

Species: *Polycarpa aurata*

2. Morfologi dan Fisiologi *Polycarpa aurata*

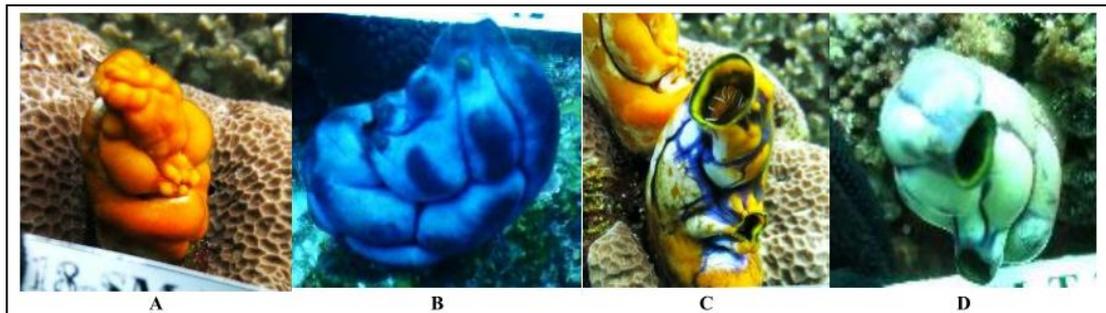
Tunikata *Polycarpa aurata* ini hidup soliter dengan panjang individu berkisar 5 hingga 20 cm dan berbentuk bulat atau kerucut. Spesies yang berkoloni jauh lebih kecil daripada spesies soliter (Cima *et al.*, 2001). Lapisan tubuh urochordata terdiri atas lapisan transparan dan tebal yang sebagian besar tersusun dari tunicin. Tunicin atau tunik ini terbentuk dari senyawa gula dan protein (selulosa). Mantel yang merupakan dinding tubuh terdiri atas jaringan ectoderm dan jaringan ikat yang membungkus berkas fiber. Pembungkus tubuh secara umum diperpanjang dengan siphon (pipa) baik pada oral maupun atrial (Colin & Arneson, 1995).

Tubuh tunikata yang dewasa berongga dengan dua sifon yaitu *incurrent* siphon atau sifon oral memungkinkan air masuk ke bagian anterior saluran pencernaan yang terdiri dari faring atau keranjang cabang yang sangat besar dan berlubang oleh banyak celah insang atau stigmata. Setiap celah cabang dibatasi oleh cincin silia yang berdetak serempak dan mengalirkan air dari lumen faring ke peribranchial (atrium) rongga agar aliran air masuk. Atrium atau rongga peribranchial didefinisikan oleh dinding tubuh dan terbuka ke luar melalui atrium dorsal (*excurrent* atau kloaka). Faring juga merupakan organ utama pernafasan ascidian. Ascidian tidak memiliki organ ekskresi sehingga melakukan pelepasan nitrogen dalam bentuk ammonia dengan cara difusi melalui dinding faring (Ballarin & Burighel, 1998; Mawaleda, 2014).



Gambar 1. Struktur dan organ dalam ascidian dewasa.
 Sumber: Zeller (2010)

Polycarpa sp. memiliki warna tunik yang beragam. Tunik tunikata memiliki tekstur yang keras dan kasar hingga yang lembut dan berlendir. Tunik tersusun dari senyawa polisakarida (secara kimiawi mirip dengan selulosa tumbuhan) (Shenkar & Swalla, 2011). Tunik kuning atau jingga dengan garis ungu yang mencolok. Warna tunik yang mencolok ini dapat memikat biota laut berperan dalam pembuangan dan penyimpanan limbah (Colin & Arneson 1995).



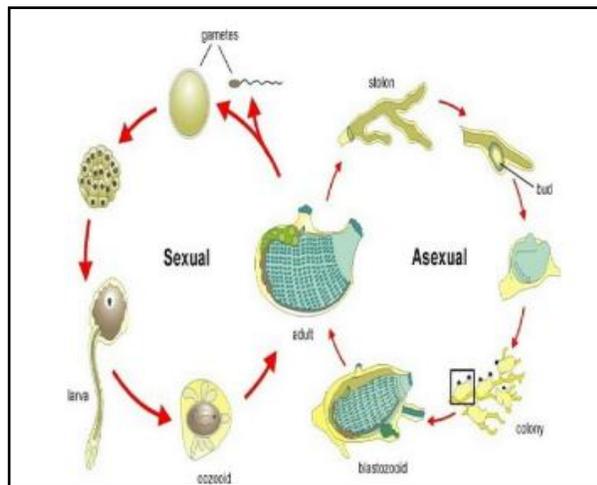
Gambar 2. Beberapa warna tunik pada *Polycarpa aurata* A. Orange tunik, B. Blue tunik, C. White tunik, D. Mixed tunik.

Sumber: Ayuningrum *et al.* (2019)

Jantung tunikata berdinding ganda dengan perikardium luar dan miokardium dalam berasal dari invaginasi dinding luar. Detak jantung terjadi dalam bentuk gelombang kontraktile dari satu ujung tabung ke yang lain. Perangsangan pusat ada di setiap ujung miokardium dan pembalikan detak jantung biasanya terjadi setiap dua hingga tiga menit (Page & Michelle, 2016). Ascidian memiliki sistem pembuluh darah terbuka

(haemocoelic) yang berkembang dengan baik. Darah beredar di sinus mesenchymatic dan lacunae, di mantel dan dinding faring. Darah ascidian terdiri dari plasma tidak berwarna, isotonik dengan air laut, dan lebar berbagai sel darah (hemosit) yang terdiri atas sel-sel yang tidak berdiferensiasi (hemoblas dan sel mirip limfosit), fagosit (amoebosit hialin dan sel makrofag seperti uni atau multivacuolar), sitotoksik sel vakuolat (amoebosit granular dan sel morula), dan sel penyimpanan vakuolat (sel pigmen dan nefrosit). Hemosit mengambil bagian dalam pengawasan imunosurvei, histokompatibilitas, sintesis tunik, ekskresi, dan tunas. Darah memainkan peran kecil dalam pertukaran pernapasan dan tidak mengandung pigmen pernapasan (Page & Michelle, 2016) karena sebagian besar jaringan berada dalam kontak dekat dengan air, sebagian besar pertukaran terjadi oleh difusi sederhana (Ballarin & Burighel, 1998).

Urochordata memiliki tali syaraf (*neural tube*) dan notocord tetapi akan hilang ketika memasuki fase dewasa olehnya itu urochordata termasuk dalam invertebrata laut (McClintock & Baker, 2001 dalam Mawaleda 2014). Pada hewan ini terdapat sistem syaraf sangat sederhana terdiri dari single ganglion dan neural ganglion. Sistem syaraf ini membantu organ dalam merespon kondisi lingkungan seperti suhu, arus dan sentuhan mekanik lainnya. Respon yang ditimbulkan berupa kontraksi otot, gerakan membuka menutup kedua siphon. Neural ganglion dapat menghasilkan hormon tertentu serta mampu mendorong terjadinya pelepasan telur serta merangsang sel kelamin saat reproduksi (Zaniolo *et al.*, 2002).



Gambar 3. Reproduksi ascidian
 Sumber: Ballarin & Burighel (1998).

Secara umum siklus hidup ascidian terdiri dari dua fase yaitu fase larva dan fase dewasa. Fase larva diawali dengan terjadinya pembuahan sel kelamin, kemudian

mengalami beberapa kali pembelahan dan akhirnya berkembang menjadi larva berenang bebas yang disebut dengan tadpole larva. Bentuk tubuh larva terdiri dari dua bagian besar yaitu batang tubuh dan ekor dengan tubuh ditutupi oleh lapisan lembut disebut juga tunik. Ascidian koloni menghasilkan tunas (asexual) untuk menambah anggota dalam koloni yang dikenal sebagai Ascidiozooids (Ballarin & Burighel, 1998).

Ascidian termasuk biota hermafrodit yang dapat menghasilkan sel telur dan sperma dalam satu individu yang sama. Semua jenis ascidian melepaskan spermanya langsung di dalam perairan. Beberapa sel telur dilepaskan dan mengalami pembuahan secara eksternal. Setelah sel telur dibuahi akhirnya berkembang di perairan terbuka menjadi tadpole yang merupakan bentuk larva dari ascidian. Larva tersebut mengalami tahap *free swimming* dengan adanya *notochord* dan *neural tube*. Selain itu, ada juga sel telur yang dibuahi secara internal dan dierami sampai mereka menjadi larva *tadpole*, kemudian dilepaskan. Dalam hitungan jam, larva yang dilepaskan akan berubah bentuk menjadi ascidian yang mendiami dasar perairan (substrat) dan dengan cepat akan kehilangan *notochord* dan *neural tube* (Zaniolo *et al.*, 2002).

3. Ekologi *Polycarpa aurata*

Tunikata banyak ditemukan di laut, muara sungai (air payau) namun tidak ditemukan di perairan tawar. Ascidian umumnya hidup pada perairan litoral yaitu zona intertidal hingga subtidal. Tunikata hidup secara melekat atau sesil pada substrat sehingga di alam tunikata berperan sebagai *filter feeder* (Fikhrudin, 2013). Ascidian hidup hampir di semua lokasi baik di terumbu karang yang masih hidup maupun sudah mati, substrat berpasir dan berlumpur, maupun menempel pada bangunan dalam air. Keragaman jenis dan jumlah individu ascidian disebabkan oleh keragaman substrat, kondisi lingkungan, ke dalaman, dan suhu (Opa *et al.*, 2020) . Ascidian hidup menempel pada karang, cangkang moluska, pasir maupun lumpur (Opa *et al.*, 2018). Tunikata banyak ditemukan mengelompok dan jarang terlihat secara individu karena adanya kebutuhan faktor lingkungan yang sama. Beberapa jenis mampu hidup berasosiasi dengan biota lainnya seperti lamun, karang, sponge, mikro algae, kerang, bulu babi dan biota lainnya (Bone, 1988 *dalam* Fikhrudin, 2013).

Secara ekologi tunikata melimpah pada kondisi perairan yang baik dan terumbu karang yang baik pula, faktor lingkungan yang mempengaruhi keberadaan tunikata seperti salinitas, suhu, intensitas cahaya, arus, dan kegiatan antropogenik yang juga dapat memberikan tekanan terhadap tumbuh kembangnya tunikata. Seperti pada

penelitian yang dilakukan oleh Ruli & Yosmina (2020) memperlihatkan bahwa stasiun yang berada jauh dari pemukiman memiliki kelimpahan tunikata yang lebih besar dibandingkan pada stasiun yang dekat dengan pemukiman dan banyak sampah. Tunikata memiliki persebaran yang dominan yaitu sekitar 3000 spesies pada perairan tropis hingga kutub dengan variasi ke dalaman perairan yaitu dari perairan dangkal hingga dalam (Shenkar & Swalla 2011).

Kelas Ascidiacea sangat dipengaruhi oleh fluktuasi salinitas atau berkurang dari kadar normal air laut (30-32 ‰), namun beberapa jenis dapat bertahan dan ditemukan dalam jumlah melimpah dalam koloni. Penelitian yang dilakukan oleh Fikhrudin (2013) membuktikan bahwa *Polycarpa aurata* memiliki tingkat adaptasi yang tinggi terhadap parameter perairan pada 3 pulau yaitu pulau Lae-Lae, Bonebatang dan Badi. Ascidian jenis *Polycarpa aurata* memiliki kemampuan dalam menyaring bahan cemar dari perairan, seperti logam berat dan bakteri, serta hidup dalam perairan bersih sampai tercemar berat.



Gambar 4. *P. aurata* yang ditemukan di perairan Pulau Barranglompo

Tunikata memiliki persebaran yang sangat luas di perairan Indonesia dengan variasi jenis maupun jumlahnya. Pada perairan Mike's Point Bunaken ditemukan beragam jenis tunikata pada kedalaman 7-14 meter yaitu ditemukan 26 jenis (Opa *et al.*, 2020). Pada perairan sekitar pulau Ambon ditemukan *Polycarpa aurata* menempel hampir pada seluruh area terumbu karang yang keras. Kedalaman yang dapat tumbuh tunikata *Polycarpa aurata* 5-35 m, namun ditemukan pula pada kedalaman 3 m. Di perairan Samalona didapatkan 18 jenis spesies tunikata pada bagian *reef flat* yaitu kedalaman 3 meter dan *reef slope* pada kedalaman 7 meter (Litaay *et al.*, 2018), Mawaleda (2014) menemukan 33 jenis tunikata pada bagian *coral reef* di perairan

Barrannglombo dan Fikhrudin (2013) menemukan 7 jenis di Lae-Lae, 9 jenis di Bone Batang dan 10 jenis di Badi dan ditemukan pula di perairan Jemeluk dan Penuktukan (Bali) ditemukan 9 jenis tunikata (Saputri *et al.*, 2018).

B. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun dari serangan organisme lain, sedangkan substansi yang dihasilkan oleh organisme melalui metabolisme dasar serta digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan organisme yang bersangkutan disebut dengan metabolit primer (Herbert, 1995 *dalam* Hardyanti, 2011; Opa *et al.*, 2018). Metabolit sekunder mengandung senyawa kimia sebagai sumber bioaktif. Berdasarkan *Data National Cancer Institute* (NCI) Amerika Serikat, biota yang tidak bertulang belakang memiliki potensi besar sebagai obat antikanker. Obat yang bersumber dari bahan alam ini merupakan hasil isolasi dari hewan maupun tumbuhan yang memproduksi senyawa kimia alami (Rocha *et al.*, 2011 *dalam* Tahar, 2017).

Untuk memperoleh senyawa bioaktif dalam bahan alam dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan analisis yang dilakukan untuk melihat ragam senyawa organik yang dihasilkan oleh makhluk hidup yang meliputi struktur kimia, biosintesis, perubahan serta metabolismenya, penyebaran alamiah dan fungsi biologisnya. Dalam melakukan uji fitokimia ini, pemilihan pelarut perlu dipertimbangkan untuk mendapatkan zat kimia tertentu yang diinginkan. Berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu telah teridentifikasi bahwa beberapa tunikata terdapat metabolit sekunder yang beragam seperti piperidin, alkali amina, alkohol amino, β karboline dan alkaloid kuinolin (Wang *et al.*, 2016). Senyawa bioaktif yang dapat menjadi agen antibakteri yaitu steroid, saponin dan triterpenoid (Nimah, *et al.*, 2012). Untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif pada tunikata jenis *Polycarpa aurata* maka dilakukan pengujian terhadap golongan senyawa ini. Golongan senyawa bioaktif pada organisme antara lain:

1. Flavonoid

Senyawa flavonoid bersifat lipofilik yang mengandung suatu senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Flavonoid merupakan senyawa polar yang dapat larut pada pelarut polar. Hal ini seperti

penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2013) terbukti bahwa senyawa flavonoid mampu larut pada pelarut metanol. Struktur flavonoid terdiri dari struktur fenol, satu gugus karbonil, fenol terhidroksilasi, C6-C3 unit terhubung ke cincin aromatik Flavon + 3-gugus hidroksil sebagai agen antimikroba dan antidiare (Tiwari *et al.*, 2011). Flavonoid menjadi agen antioksidan karena mampu menekan pembentukan spesies oksigen reaktif dengan cara menghambat kerja enzim maupun dengan mengikat logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas (Astawan & Andreas, 2008; Handayani, 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Setyaningsih *et al.* (2010) menunjukkan bahwa penambahan logam Mg dan HCL akan membentuk garam flavillium yang berwarna merah ataupun jingga hingga kuning mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut memiliki senyawa flavonoid (Iffah, 2018).

2. Tanin

Tanin tersusun atas struktur fenol polimer (Mol. Wt. 500-3000) sebagai antimikroba. Mekanismenya yaitu dengan mengikat adhesin, penghambatan enzim, perampasan substrat, kompleks dengan dinding sel, gangguan membrane (Tiwari *et al.*, 2011). Komponen fenolat dapat larut dalam air selama komponen ini berikatan dengan gula membentuk glikosida. Pada tumbuhan senyawa ini umumnya terdapat pada vakuola sel.

3. Steroid/triterpenoid

Steroid/triterpenoid merupakan senyawa yang berstruktur siklik, dapat berupa alkohol, aldehida ataupun asam karboksilat. Keberadaan triterpenoid ini dapat diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi *Liebermann-Burchard* dengan hasil positif apabila terbentuk warna biru-hijau pada sampel (Handayani, 2013).

4. Alkaloid

Alkaloid merupakan sumber nitrogen yang dipercaya terbentuk dari hasil metabolisme. Alkaloid memiliki struktur senyawa nitrogen heterosiklik protein (Tiwari, *et al.*, 2011). Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Alkaloid metabolit sekunder yang merupakan turunan asam amino dan dalam kerangkanya memiliki atom N (Iffah, 2018). Alkaloid mampu larut pada pelarut organik (non polar) sedangkan beberapa kelompok pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air (polar) (Lenny & Cut, 2005). Untuk mengidentifikasi adanya

senyawa alkaloid dalam suatu bahan alam dapat menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) yang mampu mengendapkan hampir semua alkaloid, pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodide), asam silikotungstat 5%, asam tanat 5%, pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), dan iodoplatinat (Robinson, 1995 *dalam* Ulfa, 2014). Apabila ekstrak mengandung alkaloid maka akan terbentuk warna yang sesuai dengan pereaksinya. Pereaksi *Mayer* akan menghasilkan endapan putih, *Dragendorff* akan menghasilkan warna jingga sedangkan pereaksi Wagner akan menghasilkan endapan coklat (Ulfa, 2014).

5. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Saponin termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai kerangka karbon berdasarkan isoprena. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, dan sering mempunyai titik lebur tinggi (Harborne 1987 *dalam* Hardyanti, 2011). Saponin memiliki rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan air, menghemolisis eritrosit, merupakan racun yang kuat untuk ikan dan amfibi, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan steroid lain, sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi dan memiliki berat molekul yang tinggi (Nio, 1989 *dalam* Iffah, 2018).

C. Metabolit Sekunder Tunikata

Tunikata menghasilkan metabolit sekunder sejak larva hingga dewasa untuk menghindari predator di habitatnya. Metabolit sekunder yang dihasilkan ini kaya akan bioaktif yang menjadi sumber antifungal, antibakteri, dan lain (Abourriche *et al.*, 1999). Ascidian ini merupakan invertebrata di ekosistem terumbu karang yang banyak menghasilkan senyawa bioaktif untuk farmakologi di mana hewan ini dapat berasosiasi dengan mikroba fotosintetik dan mempunyai potensi molekular yang besar, karena kandungan metabolit sekundernya yang merupakan substansi bioaktif (Fikruddin, 2013; Mawaleda, 2014; Cima *et al.*, 2016). Seperti halnya biota laut lainnya, tunikata mengandung senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk adaptasinya dan juga untuk kelangsungan hidupnya di lingkungan yang dinamis. Kemampuan dalam menghasilkan metabolit sekunder inilah memungkinkan bahwa tunikata berpotensi besar sebagai salah satu sumber senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai hal misalnya sebagai sumber antibiotik, antikanker, obat-obatan dan lainnya. *P. aurata* mengandung

D. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut tertentu. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sudjadi, 1986 *dalam* Manoppo *et al.*, 2019). Proses ekstraksi secara umum dapat dibagi menjadi 2 (dua) yaitu ekstraksi padat-cair (*solid-liquid extraction*) dan ekstraksi cair-cair (*liquid-liquid extraction*) (Veronique, 2012). Ekstraksi padat-cair pada umumnya digunakan untuk mengekstraksi senyawa atau molekul-molekul dari bahan alam. Sedangkan ekstraksi cair-cair pada umumnya digunakan dalam proses separasi atau pemurnian senyawa dari alam maupun senyawa produk dari suatu reaksi kimia (Pavia *et al.*, 1995 *dalam* Manoppo, *et al.*, 2019). Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam mengekstraksi bahan alam yaitu tingkat kehalusan material awal, waktu ekstraksi, jenis bahan pelarut dengan mempertimbangkan kelarutannya dan volume pelarut (Oktavianus *et al.*, 2013; Bernasconi, 1995 *dalam* Ulfa 2014).

Tabel 1. Sifat fisikokimia dari beberapa pelarut yang umum digunakan dalam ekstraksi produk alami

Pelarut	Indeks Polaritas	Titik Didih (°C)	Viskositas (cPoise)	Kelarutan dalam Air (% w/w)
n-Heksan	0	69	0.33	0.001
Diklorometana	3.1	41	0.44	1.6
n-Butanol	3.9	118	2.98	7.81
iso-Propanol	3.9	82	2.3	100
n-Propanol	4	92	2.27	100
Kloroform	4.1	61	0.57	0.815
Etil Asetat	4.4	77	0.45	8.7
Aseton	5.1	56	0.32	100
Metanol	5.1	65	0.6	100
Etanol	5.2	78	1.2	100
Air	9	100	1	100

Beberapa proses ekstraksi yang biasa digunakan untuk mendapatkan metabolit sekunder pada makhluk hidup terutama hewan dan tumbuhan (Tiwari *et al.*, 2011) yaitu:

1. Soxhlet

Ekstraksi soxhlet dilakukan jika senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut. Jika senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan yang tinggi dalam suatu pelarut maka filtrasi sederhana. Metode ini dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dari zat yang tidak dapat larut. Metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa termolabil karena pemanasan yang berkepanjangan dapat menyebabkan degradasi senyawa.

2. Maserasi

Proses maserasi dapat dilakukan dengan perbandingan berat sampel dan volume pelarut, misalnya dengan perbandingan 1:3 (w/v). Apabila jumlah pelarut yang digunakan semakin besar maka akan memperbesar jumlah ekstrak kasar yang dihasilkan sampai larutan mencapai kejenuhan sedangkan penambahan larutan setelah itu tidak akan mempengaruhi jumlah ekstrak. Dalam pemilihan jenis pelarut ada beberapa hal yang harus diperhatikan misalnya harga pelarut, ketersediaannya secara umum, stabil secara fisika dan kimianya, reaksinya netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak berpengaruh terhadap zat yang berkhasiat. Larutan untuk mengekstrak suatu senyawa disesuaikan dengan kepolaran senyawa tersebut. Apabila pelarutnya polar maka akan melarutkan senyawa bioaktif yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa bioaktif yang non polar (Miryanti *et al.*, 2011).

3. Dekoksi

Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam air dan stabil terhadap panas dari obat mentah dengan merebusnya dalam air selama 15 menit, mendinginkan, menyaring dan melewatkan air dingin yang cukup melalui obat untuk menghasilkan volume yang dibutuhkan.

4. Infus

Infus adalah larutan encer dari komponen obat mentah yang mudah larut. Infus segar dibuat dengan membasahi padatan untuk waktu yang singkat dengan air dingin atau air mendidih.

5. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 - 50°C. Ini digunakan ketika suhu yang cukup tinggi tidak dapat diterima dan efisiensi pelarut menstruasi meningkat karenanya.

6. Perkolasi

Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dengan menggunakan perkolator (bejana sempit berbentuk kerucut yang terbuka di kedua ujungnya). Siplisia direndam dengan pelarut yang dituangkan sedikit demi sedikit dan menunggu ekstrak meresap dan keluar dari dasar perkolator. Langkah ini dilakukan berulang dan berturut-turut. Perkolasi dapat digunakan untuk ekstraksi awal dan skala besar. Namun, kelemahan utama perkolasi adalah diperlukan pelarut dalam jumlah besar dan prosesnya dapat memakan waktu. Untuk memastikan bahwa ekstraksi selesai, perkolasi dapat diuji keberadaan metabolitnya dengan reagen khusus (Veronique, 2012).

7. Sonikasi

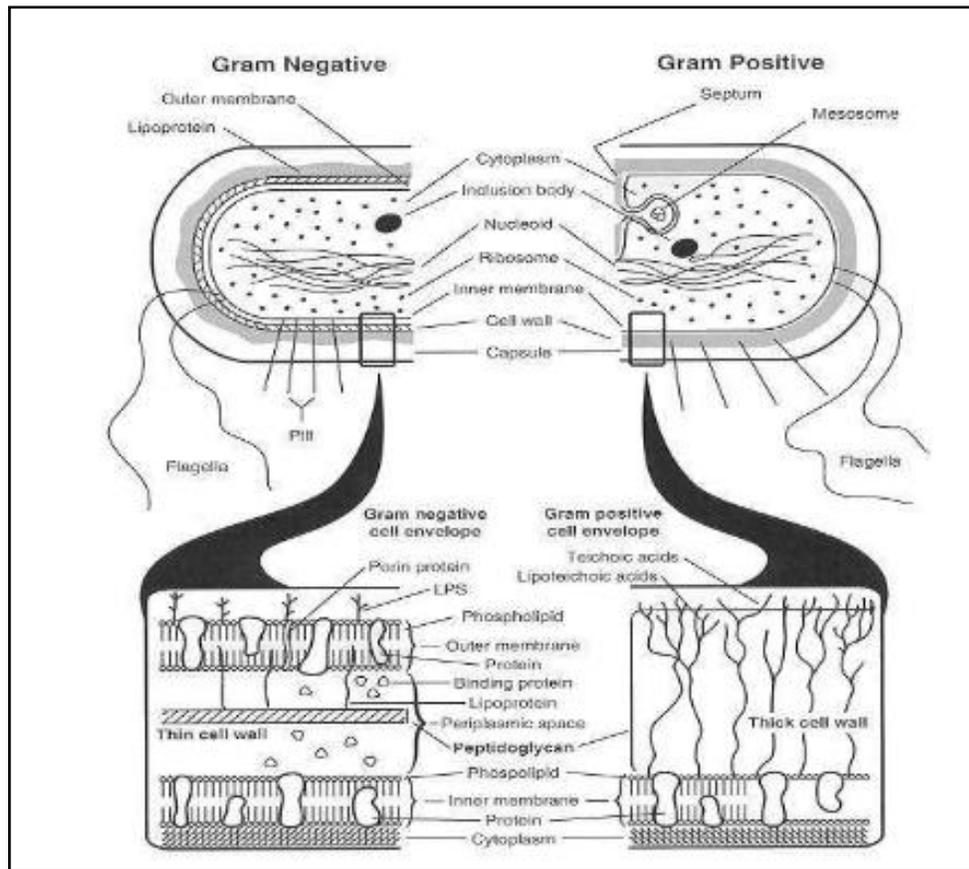
Prosedur ini melibatkan penggunaan ultrasound dengan frekuensi mulai dari 20 kHz hingga 2000 kHz; ini meningkatkan permeabilitas dinding sel dan menghasilkan kavitasi. Salah satu kelemahan dari prosedur ini adalah efek merusak yang kadang-kadang tetapi diketahui dari energi ultrasound (lebih dari 20 kHz) pada konstituen aktif tanaman obat melalui pembentukan radikal bebas dan akibatnya perubahan yang tidak diinginkan dalam molekul obat.

E. Bakteri Patogen Udara

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik bersel satu dengan ukuran berkisar antara 0,5µm- 10µm dan lebar 0,5µm-2.5µm tergantung jenisnya. Secara umum, bakteri berbentuk bulat, batang, spiral, koma. Selain itu, bakteri dapat dibedakan berdasarkan reaksi terhadap gram pewarnaan yaitu bakteri Gram negatif dan Gram positif. Dalam proses pewarnaan, dinding sel bakteri yang mengikat pewarna dasar (kristal ungu) akan memberikan respon warna ungu (violet) sehingga bakteri tersebut dikelompokkan dalam Gram positif sedangkan dinding sel bakteri yang tidak mengikat pewarna dasar, tetapi

menyerap pewarna tandingan (safranin) akan memberikan respon warna merah atau merah muda (pink) sehingga bakteri ini dikelompokkan pada gram-negatif (Ijong, 2015).

Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang tipis dengan ukuran 10–15 nm yang berlapis tiga. Peptidoglikan terdapat pada lapisan yang kaku berada pada sebelah dalam dengan jumlah yang sedikit yaitu 10% dari berat kering. Membran sel bakteri Gram negatif mengandung lipid yang tinggi yaitu 11–22 %. Sedangkan bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal yaitu 15–80 nm dengan lapisan tunggal. Peptidoglikogen pada sel lebih dari 50% berat kering (Pelczar & Eddie, 2005).



Gambar 6. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif dan Gram positif
Sumber: Milton & Kwang-shin, 2001; Shatzmiller *et al.* 2018.

Bakteri patogen adalah bakteri yang berpotensi menimbulkan penyakit atau menginfeksi inangnya. Infeksi bakteri ini bermula dengan adanya pelekatan atau adhesi (*attachment*) pada permukaan inang, kemudian masuk ke dalam tubuh inang, terjadi proses kolonisasi pada bagian sel yang lebih spesifik kemudian dengan adanya nutrisi yang cukup bakteri akan menjalar (invasi) ke seluruh tubuh inang dan merusaknya (Ode, 2012). Beberapa penyakit pada udang disebabkan oleh bakteri patogen yaitu

Pseudomonas spp., *Aeromonas spp.*, *Vibrio spp.*, *Salmonella spp.*, *Leucothrix spp.*, *Mycobacterium*, *Shigella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Yersinia spp.*, dan *Proteus spp.* (Hatmanti, 2003).

Penyakit yang disebabkan oleh *pathogenic bacterial* ini disebut *bacterial diseases*. Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri yang banyak ditemukan secara luas di perairan yang bersifat patogen terhadap biota air tawar dan air laut. *Salmonella spp.*, menjadi penyebab penyakit *salmonellosis*, bakteri ini dapat menyebabkan demam enterik, septikimia dan gastroenteritis pada manusia yang mengonsumsi biota yang terinfeksi oleh bakteri ini (Hatmanti, 2003). Bakteri dari genus *Vibrio* yaitu *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. carcharial* dan *V. penaeicida* (Hatmanti, 2003; Asplund, 2013). Bakteri *Vibrio* sp. dapat bertindak sebagai bakteri patogen primer yaitu menginfeksi biota dengan kontak langsung dan sekunder dengan menginfeksi biota yang telah terserang penyakit sebelumnya (Ode, 2012). Bakteri *Vibrio* spp. banyak menginfeksi organisme laut dengan kepadatan yang tinggi misalnya ikan, udang, moluska, lamun, spons, dan zooplankton (Thompson *et al.*, 2004).

Penyakit yang diakibatkan oleh bakteri bersifat sangat akut dan ganas, karena dapat mematikan populasi larva udang dalam waktu 1 sampai 3 hari saja sejak awal dampak (Rukyani *et al.*, 1992). Penyakit infeksi bakteri oleh bakteri *Vibrio* sp. disebut Vibriosis. Vibriosis berpendar merupakan penyebab kematian utama, khususnya pada budidaya udang (Huang, *et al.*, 2013). Udang Vanamme yang telah terinfeksi bakteri *Vibrio harveyi* mengalami perubahan tingkah laku, morfologi, mengalami penurunan respon pakan pasca infeksi. Perubahan morfologi pada udang dapat dilihat mulai hari ke-1 dan ke-2 menunjukkan bahwa tubuh memerah, kaki renang memerah, telson memerah dan rostrum memerah (Sari *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Nasnia (2007) mengemukakan bahwa *Vibrio* sp. menyebabkan mortalitas sebesar 90% pada larva udang windu (*Penaerus monodon*). Bakteri menyerang larva udang pada saat udang mengalami stress dan dalam keadaan lemah (Feliatra *et al.*, 2014). Mekanisme infeksi bakteri pada udang yaitu bakteri awalnya masuk melalui mulut, kemudian membentuk plak, dan menyebar ke alat gerak sehingga menyebabkan kehilangan fungsi dan degradasi alat gerak. Misalnya Infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* dapat terjadi pada semua fase yaitu fase telur sampai indukan dan banyak menyebabkan kasus kematian organisme budidaya sampai 100% (Kusumaningrum *et al.*, 2017).

1. *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri Gram negatif, bersifat motil atau bergerak, berbentuk lengkung atau koma, oksidase positif, dapat memfermentasi glukosa, laktosa, galaktosa dan mannitol positif, aerob fakultatif dan mempunyai flagel pada salah satu kutubnya, tidak dapat membentuk spora serta bersifat zoonosis dan sangat rentan terhadap suhu yang rendah. Bakteri *V. parahaemolyticus* hidup di perairan muara sungai (estuari), pantai (*coastal water*) tetapi tidak hidup pada laut dalam (*deep sea*). Di perairan, bakteri ini mampu tumbuh pada kadar NaCl optimum 3%, kisaran suhu 5 – 43°C dan pH 4,8 – 11. *V. parahaemolyticus* ini dapat tumbuh cepat pada kondisi suhu optimum 37°C dengan waktu generasi 9 – 10 menit (Oktavianus *et al.*, 2013).

Dalam melakukan isolasi *V. parahaemolyticus* ini sebaiknya pada saat ikan ditangkap dan belum mengalami pengawetan. Hal ini berdasarkan penelitian Ijong (1993) yaitu melakukan inokulasi pada ikan tuna yang sudah disimpan pada *refrigerator* sel bakteri ini mengalami kelukaan (*injured cell*) sehingga apabila digores pada media TCBS Agar tidak akan tumbuh. *V. parahaemolyticus* ini dapat menyebabkan gangguan pencernaan pada manusia (Ijong, 2015). Bakteri *V. parahaemolyticus* dapat hidup sebagai koloni pada kerang-kerangan, udang, ikan dan produk makanan laut lainnya. Bakteri *V. parahaemolyticus* masuk ke dalam tubuh manusia yang mengkonsumsi produk makanan laut seperti udang, kerang, ataupun ikan mentah yang dimasak kurang sempurna (Sudheesh & Xu, 2001). *V. parahaemolyticus* merupakan agen penyebab penyakit septikimia yang menyerang udang budidaya pada fase larva dan post larva. Bakteri ini dapat menyebabkan lisis pada sel-sel darah tubuh inang (Hatmanti, 2003).

Berikut klasifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* menurut Kanagawa (1985) dalam Oktavianus *et al.*, (2013):

Kingdom: Bacteria

Filum: Proteobacteria

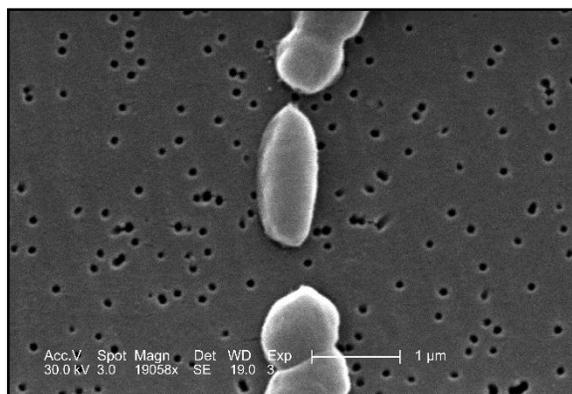
Class: Gammaproteobacteria

Order: Vibrionales

Family: Vibrionaceae

Genus: *Vibrio*

Species: *Vibrio parahaemolyticus*



Gambar 7. *Vibrio parahaemolyticus*

Sumber: https://en.wikipedia.org/wiki/File:Vibrio_parahaemolyticus_01.jpg diakses pada 24 Agustus 2020

2. *Vibrio harveyi*

Bakteri *Vibrio harveyi* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk lengkung, berasal dari air laut, bersifat anaerob fakultatif. Bakteri *V. harveyi* hanya memiliki flagel pada salah satu kutubnya (*monotric flagel*), oksidase positif, katalase positif, sel berukuran 1-4 μm (Datu, 2017). Bakteri ini bersifat oportunistik dan akan bersifat patogen apabila terjadi fluktuasi pada parameter perairan pada pemeliharannya berupa perubahan suhu, pH, salinitas serta faktor lainnya. Patogenitas *V. harveyi* dapat menyebabkan penyakit lesi mata, gastroenteritis, vaskulitis dan vibriosis berpendar. ambang batas keberadaan populasi *Vibrio harveyi* yang masih dapat ditoleransi yaitu $8,35 \times 10^4$ koloni/ml (Roza dan Zafran, 1998 dalam Hatmanti, 2003).

Klasifikasi bakteri *V. harveyi* (Johnson & Shunk 1936; Baumann *et al.*, 1981) sebagai berikut:

Kingdom: Bacteria

Filum: Proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

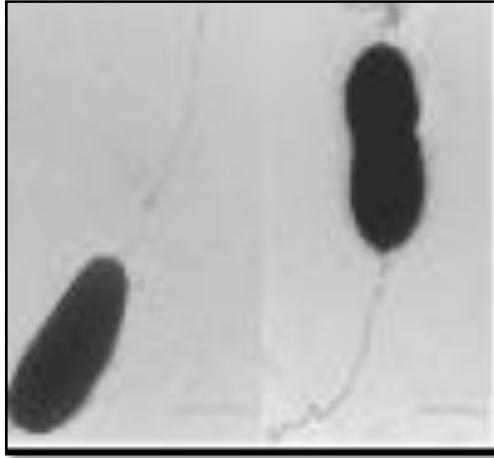
Order: Vibrionales

Family: Vibrionaceae

Genus: *Vibrio*

Species: *Vibrio harveyi*

Sumber: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> diakses pada 24 Agustus 2020



Gambar 8. Morfologi strain *Vibrio harveyi* tampak dari mikroskop elektron transmisi sel VIB 645

Sumber: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7223180/> diakses pada 24 Agustus 2020.

V. harveyi ini menjadi penyebab utama terhadap tingginya tingkat kematian pada fase larva krustasea. Bakteri *Vibrio* sp. umumnya dapat menyebabkan penyakit vibriosis yang menyerang dengan ganas terhadap udang yang dibudidayakan. Perkembangan bakteri ini sangat pesat apabila didukung dengan tingginya bahan organik pada perairan tambak tersebut. Peningkatan jumlah bakteri *Vibrio* sp. menjadi penyebab utama penyakit pada udang yang mampu menurunkan hasil produksi (Kharisma & Abdul, 2012). Umumnya bakteri *Vibrio* spp. merupakan bakteri patogen oportunistik pada hewan poikiloterm dan homoikiloterm yang berada di perairan. Penggunaan antibiotik secara rutin pada media pemeliharaan dan budidaya krustasea menimbulkan strain *Vibrio* yang resisten terhadap antibiotik. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Rusdi dan Zafran (1998) dilakukan pengujian antibiotik pada larva kepiting bakau terhadap seragan bakteri *V. harveyi* menunjukkan bahwa pada konsentrasi tertentu penggunaan antibiotik dapat menekan mortalitas larva kepiting bakau dan menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Antibiotik yang digunakan yaitu oksitetrasiklin 6,25 mg/L, prefuran 12,50 mg/L dan furazolidon 12,50 mg/L (Hatmanti, 2003).

F. Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah jenis bahan tambahan yang digunakan dengan tujuan untuk mencegah kebusukan atau keracunan oleh mikroorganisme pada bahan pangan. Kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya: 1) konsentrasi zat pengawet, 2) jenis,

umur dan keadaan mikroba, 3) suhu, 4) waktu dan 5) sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen di dalamnya. Beberapa jenis senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah sodium benzoat, senyawa fenol, asam-asam organik, asam lemak rantai medium dan esternya, sulfur dioksida dan sulfid, nitrit, senyawa kolagen dan surfaktan, dimetil karbonat dan metil askorbat.

Antibakteri dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu bakteriostatik yang hanya dapat menghambat proses pertumbuhan koloni bakteri, dan bakteriosidal yang mampu membunuh koloni bakteri sepenuhnya. Zat antibakteri dapat bersifat bakteriosidal (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri) (Pankey & Sabath, 2004; Tahar, 2017). Penggunaan antibiotik dewasa ini semakin membuat bakteri resisten sehingga dibutuhkan antibiotik yang baru dan alami. Penyebab utama resistensi bakteri adalah penggunaan antibiotik yang meluas dan irasional. Sifat patogen ini disebabkan oleh pengaruh adaptasi dan evolusi bakteri, sehingga bakteri semakin resisten terhadap antibiotik. Suatu bahan dapat berpotensi sebagai antibiotik dengan melakukan pengujian bioaktivitas terhadap metabolit sekunder tersebut. Setelah dilakukan pengujian, senyawa bioaktif yang berpotensi menghambat atau mematikan bakteri disebut dengan antibakteri.

Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme. Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibiotik bervariasi. Bakteri Gram positif biasanya lebih peka dibandingkan bakteri Gram negatif, meskipun beberapa antibiotik dapat bereaksi atau mempengaruhi hanya pada bakteri Gram negatif, tetapi tidak menutup kemungkinan bakteri Gram negatif lebih peka dibandingkan dengan bakteri Gram positif pada beberapa antibiotik tertentu. Zat antibiotik yang dapat bereaksi dengan bakteri Gram positif dan Gram negatif disebut dengan antibiotik *broad spektrum* atau antibiotik berspektrum luas. Uji antibakteri dapat dilakukan untuk mengetahui sejauh mana aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri.

Menurut Brock dan Madigan (1994) terdapat tiga metode yang umum digunakan dalam uji antibakteri, yaitu metode dilusi kaldu, metode dilusi agar dan metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri dituangkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung senyawa antibakteri tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu,

selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Bakteri yang sering diujikan adalah bakteri patogen seperti *Vibrio parahaemolyticus* (Iffah, 2018; Manoppo, *et al.*, 2019). Potensi antibiotik nantinya harus disesuaikan dengan *International standard sample*. Sedangkan untuk penentuan kekuatan dan sensitivitasnya dilakukan dengan tujuan mengukur zona hambat untuk menentukan konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri (*Minimal Inhibitory Concentration*, MIC). Untuk penentuan kesensitifan (*sensivity test*) dari suatu antibiotik biasa dilakukan di laboratorium rumah sakit (Irianto, 2006).