

Antibacterial Activity of Tunicata Ethanol Extract *Polycarpa Aurata* against *Escherichia Coli* and *Salmonella Typhi* by TLC-Bioautography and Agar Diffusion

Ratmi Selviati¹, Herwin¹, Siska Nuryanti¹

¹Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info Received: 03/08/2023 Available online:31/03/2024	ABSTRACT <i>Tunicata Polycarpa aurata</i> contains chemical compounds in the form of peptides and alkaloids that are cytotoxic and have the ability as antibacterial against several pathogenic bacteria. The aims of this study was to determine the antibacterial activity of the ethanol extract of <i>Tunicata Polycarpa aurata</i> using the TLC-bioautography and diffusion method. <i>Tunicata Polycarpa aurata</i> was extracted by maceration and then evaporated to obtain a thick extract. The results of the antibacterial screening test showed the active extract at a concentration of 0.1% against <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella typhi</i> . The results of testing for antibacterial activity using the TLC-bioautography with using ethanol: ethyl acetate (1:4) eluent showed results of <i>Salmonella typhi</i> bacteria with an Rf value = 0.27 and <i>Escherichia coli</i> bacteria with an Rf value = 0.27. While the results of testing the antibacterial activity the using the agar diffusion method showed the largest inhibition zona diameter at a concentration of 4% for <i>Escherichia coli</i> bacteria with an inhibition zone diameter of 12.55 mm, and <i>Salmonella typhi</i> with an inhibition zone diameter of 12.3 mm. Phytochemical screening tests on the ethanol extract of <i>Tunicata Polycarpa aurata</i> revealed the presence of flavonoids, tannins, steroids/terpenoids, alkaloids and saponins.
Corresponding Author: Nurul Fadhillah Junardin Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, Indonesia email: dhillahjuna@gmail.com	
Keyword:	Antibacterial, Agar diffusion, <i>Escherichia coli</i> , <i>Polycarpa aurata</i> , <i>Salmonella typhi</i> , TLC-Bioautography



Copyright ©2024 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Infeksi saluran pencernaan masih menjadi salah satu masalah kesehatan yang besar di Indonesia, terutama di daerah dengan tingkat sanitasi yang rendah dan jumlah populasi yang sangat padat. Infeksi saluran pencernaan disebabkan oleh mikroorganisme patogen salah satunya ialah bakteri. Penyakit ini seiring waktu semakin meningkat, dibuktikan dengan

tingginya prevalensi penyakit diare¹. Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan penyakit diare antara lain bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Clostridia perfringens*, dan *Staphylococcus aureus*². Keanekaragaman hayati tersebut memberi peluang untuk memanfaatkan senyawa-senyawa aktif dari biota laut sebagai sumber pengobatan salah

satunya adalah pengobatan terhadap penyakit infeksi.

Tunikata merupakan invertebrata di ekosistem terumbu karang yang banyak menghasilkan senyawa seperti, antibakteri, antitumor dan antikanker. Sekitar 1.000 bahan aktif telah diisolasi dari tunikata. Salah satu komponen terumbu karang yang hidupnya sesil di terumbu, substrat dan batu adalah Tunicata *Polycarpa aurata*³. Tunikata termasuk golongan vertebrata yang seringkali teridentifikasi sebagai invertebrata. Padahal fase larva dalam hidup tunikata memiliki notokord di ekornya. Nama tunikata sendiri berasal dari kata tunic, semacam mantel yang menutupi tubuh dewasanya. Tunikata diklasifikasikan kedalam empat kelas yaitu Apendicularia (Larvacea), Ascidiacea, Thaliacea, dan Sorberacea⁴. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa hasil ekstraksi Tunicata *Polycarpa aurata* mengandung senyawa kimia berupa peptida dan golongan alkaloid yang bersifat sitotoksik dan memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen⁵.

Tunikata merupakan invertebrata di ekosistem terumbu karang yang banyak menghasilkan senyawa seperti, antibakteri, antitumor dan antikanker. Sekitar 1.000 bahan aktif telah diisolasi dari tunikata⁶. Selain itu hewan laut seperti Tunicata *Polycarpa aurata* yang ada di terumbu karang, diketahui memiliki senyawa yang

berguna untuk bahan antibiotik, antiradang, dan antikanker⁷. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa isolat bakteri yang berasal dari Tunicata *Polycarpa aurata* berpotensi menghasilkan senyawa antibakteri bersifat bakteriosidal maupun bersifat bakteriostatik⁸.

Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik melakukan penelitian untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol Tunicata jenis *Polycarpa aurata* terhadap beberapa bakteri yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah alat-alat seperti pisau, masker, sarung tangan, jas lab, Erlenmeyer (pyrex), gelas kimia, gelas ukur, corong pisah, cawan petri (Normax), pinset, spatula, autoklaf (Smic[®]), piper tetes, pembakar spistur, L glass, jarum ose, *laminar air flow* (N Biotek), batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, lemari pendingin, incubator (Mommert[®]), mikropipet, cakram, pot salep, vial, jangk sorong, seperangkat alat KLT, timbangan analitik (Chyco[®]), vortex, *hockey stick*, pembakar Bunsen.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest steril, bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*), sampel *Polycarpa aurata*, etanol, etil asetat, Maltosa Yeast Broth (MYB), Nutrient Agar

(NA), Kloramfenikol paper disc, alcohol, label, tissue, aluminium foil, kertas saring, Potato Dextrosa Agar (PDA).

Pengambilan sampel dan penyiapan sampel

Pengambilan sampel *Tunikata Polycarpa aurata* dilakukan di perairan Pulau Barranglompo dengan bantuan SCUBA/ADS daerah reef flat dengan kedalaman 2–5 meter. Cuplikan *Polycarpa aurata* sekitar 5-7 cm diambil dengan memotong pada pangkal sekitar yang menempel pada substrat untuk sampel individu yang dipilih yang ukuran besar. Setelah sampai ke permukaan laut *Polycarpa aurata* dibersihkan dengan air laut. Kemudian dimasukkan ke dalam plastik sampel dan *cool box* untuk selanjutnya dilakukan analisis dan pengujian di laboratorium.

Sampel yang telah diambil, dikeluarkan organ dalamnya dengan membelah bagian luar kemudian dicuci hingga bersih dengan air mengalir (Veronique, 2012). Setelahnya dipotong kecil-kecil dan langsung dimasukkan kedalam botol yang berisi pelarut etanol 95%. Botol sampel dimasukkan kedalam kotak pendingin (*cool box*) yang berisi es batu dan tidak terkena matahari secara langsung.

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan jenis pelarut yaitu

etanol. Penggunaan etanol sebagai pelarut dalam ekstraksi ini berdasarkan beberapa penelitian yang merujuk bahwa etanol mampu menarik senyawa bioaktif pada sampel sesuai dengan tingkat kepolarannya¹². Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan *Tunicata Polycarpa aurata* sebanyak 500 g dicuci bersih, kemudian dikeringkan dan dihaluskan serta diayak dengan pengayak ukuran 100 mesh. Serbuk yang didapatkan ditimbang sebanyak 100 g. Serbuk simplisia direndam dalam 300 ml pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dan diambil filtratnya dengan penyaringan. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan ditimbang dan dihitung rendemennya¹³.

Pembuatan suspensi bakteri uji

Pembuatan suspensi bakteri uji (*Eschcrichia coli* dan *Salmonella typhi*) dilakukan dengan mengambil 2 ose kultur murni bakteri uji masing-masing kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0.9% dan menghomogenkannya dengan menggunakan vortex. Kemudian suspensi ini dianalisis kekeruhan dengan standar 0,5 suspensi Mc Farland. Suspensi Mc Farland dibuat dengan mencampur larutan 1% barium klorida ($BaCl_2$) sebanyak 0.05 ml dan larutan 1% asam sulfat (H_2SO_4) sebanyak

9.95 ml dengan pemberian H_2SO_4 terlebih dahulu. Standar kekeruhan yang digunakan yaitu 0.5 Mc Farland yang memiliki tingkat kekeruhan sebanding dengan $1,5 \times 10^8$ Colony Forming Unit (CFU)/ml. Jika standar kekeruhan pada *Eschcrichia coli* dan *Salmonella typhi* belum sesuai dengan standar 0,5 McFarland maka dilanjutkan dengan pengenceran yaitu mengambil 1 ml bakteri *Eschcrichia coli* dan *Salmonella typhi* lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9%, lalu vortex dan dibandingkan kembali dengan standar 0,5 McFarland menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm¹⁴.

Skrining aktivitas antibakteri ekstrak etanol Tunicata jenis *Polycarpa aurata* secara Difusi agar

Uji aktifvitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion* (tes Kirby Bauer) atau disebut juga dengan metode difusi yaitu dengan meletakkan piringan dengan diameter 6 mm yang berisi agen antibakteri (ekstrak etanol *Polycarpa aurata*) di atas media TSA yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut.

Sebanyak 200 μ l suspensi bakteri dengan standar kekeruhan 0,5 diambil menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung bertutup yang berisi 20 ml medium TSA lalu dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Menghindari medium dalam keadaan yang sangat panas

ataupun memadat kembali. Medium yang telah tercampur dengan bakteri tersebut dituang ke dalam cawan petri, lalu ditunggu hingga memadat sehingga terbentuk plate medium yang mengandung bakteri¹².

Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian yaitu 2mg/50 μ l pelarut pada setiap paper disc. Selanjutnya ekstrak kasar etanol ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf tube steril dan dilarutkan dengan pelarut. Kontrol positif ciprofloxacin 30ppm digunakan 50 μ l pada setiap paper disc dan kontrol negatif yaitu pelarut etanol 50 μ l/paper disc.

Selanjutnya dilakukan penetesan ekstrak etanol, kontrol positif dan kontrol negatif pada setiap flying paper disc. Kemudian menunggu hingga pelarut menguap dan paper disc tampak kering. Selanjutnya meletakkan setiap paper disc yang berisi ekstrak dan kontrol pada medium plate yang berisi bakteri dan telah memadat. Melakukan setiap langkah dengan hati-hati dan aseptis. Setelah itu, inkubasi pada suhu 30° C selama 24 jam. Uji aktivitas bakteri dilakukan dengan metode difusi untuk mengetahui aktivitas bahan bioaktif dari suatu organisme terhadap bakteri patogen dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong¹².

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis

Lempeng kromatografi lapis tipis diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Ekstrak *Tunicata Polycarpa aurata* kemudian ditotolkan pada lempeng KLT berukuran 7x1 cm menggunakan pipa kapiler. Kemudian dielusi dengan menggunakan eluen yang sesuai dan lempeng dimasukkan ke dalam chamber. Lempeng kemudian dikeluarkan dari chamber dan diangin-anginkan sehingga cairan pengelusnya menguap. Kromatogram yang diperoleh dilakukan pengamatan bercak pada sinar UV 254 nm dan 366 nm¹⁵.

Pengujian Secara KLT-Bioautografi

Nutrien agar sebanyak 0,56 g ditimbang dan ditambahkan dengan aquadest sampai 20 ml dan dilarutkan sampai benar-benar terlarut (homogen). Media kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan. Media yang masih cair dituang ke cawan petri sebanyak 20 ml masing-masing dan dibiarkan memadat. Kromatogram hasil pemisahan senyawa KLT diletakkan di atas medium yang memadat dan didiamkan untuk 30 menit ke depan di lemari pendingin, kemudian lempeng diambil dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C.

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol *Tunicata* Jenis *Polycarpa aurata*

Flavonoid

Ekstrak kental etanol ditotolkan pada lempeng KLT. Kemudian tambahkan larutan eluen dan dimasukkan ke dalam chamber. Lempeng KLT yang telah ditotolkan ekstrak dimasukkan ke dalam chamber yang telah berisi eluen untuk proses elusi setelah selesai proses elusi, lempeng KLT disemprotkan dengan pereaksi AlCl₃ 10%. Hasil positif dilihat dari perubahan warna noda menjadi Kuning-Hijau muda. Untuk memperjelas penampakan noda warna pada lempeng KLT, lng disempemperotkan dengan larutan H₂SO₄ 4%.

Tanin

Ekstrak kental etanol ditotolkan pada lempeng KLT. Kemudian tambahkan larutan eluen dan dimasukkan ke dalam chamber. Lempeng KLT yang telah ditotolkan ekstrak dimasukkan ke dalam chamber yang telah berisi eluen untuk proses elusi. Setelah selesai proses elusi, lempeng KLT disemprotkan dengan larutan pereaksi FeCl₃ 5%. Hasil positif dilihat dari perubahan warna noda menjadi biru tua-hitam.

Triterpenoid/steroid

Ekstrak kental etanol ditotolkan pada lempeng KLT. Kemudian tambahkan larutan eluen selanjutnya dimasukkan ke dalam chamber. Lempeng KLT yang telah ditotolkan ekstrak dimasukkan ke dalam

chamber yang telah berisi eluen untuk proses elusi. Setelah selesai proses elusi, lempeng KLT disemprotkan dengan larutan pereaksi H₂SO₄ 10%. Hasil positif dilihat dari perubahan warna noda menjadi merah muda kecoklatan.

Alkaloid

Pengujian alkaloid dilakukan dengan cara ± 2 mg ekstrak yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam lumpang kemudian ditambah kloroform 10 ml dan dilarutkan. Ditambahkan 5 ml kloroform-amoniak 0,05 M, disaring ke dalam tabung reaksi. Terhadap filtrat tersebut ditambahkan 10-20 tetes asam sulfat 2 N lalu dikocok perlahan selama 2-3 menit dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas diambil dan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi dan diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Terbentuknya endapan putih terhadap pereaksi Mayer dan endapan jingga-merah dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil positif uji alkaloid.

Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan cara 1 ml fraksi air dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung dikocok selama 1-2 menit. Terbentuknya busa yang cukup permanen (tidak hilang selama 5 menit) menunjukkan adanya saponin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tunikata adalah merupakan invertebrata di ekosistem terumbu karang

yang banyak menghasilkan senyawa seperti, antibakteri, antitumor dan antikanker. Sekitar 1.000 bahan aktif telah diisolasi dari tunikata. Salah satu komponen terumbu karang yang hidupnya sesil di terumbu, substrat dan batu adalah Tunicata *Polycarpa aurata*³. Selain itu hewan laut seperti Tunicata *Polycarpa aurata* yang ada di terumbu karang, diketahui memiliki senyawa yang berguna untuk bahan antibiotik, antiradang, dan antikanker⁷. Karakteristik morfologi koloni *Polycarpa aurata* yang ditemukan pada bagian reef flat Pulau Kodingareng memiliki karakteristik morfologi sama dengan yang telah ditemukan di Pulau Kodingareng¹⁶. Spesies *Polycarpa aurata* memiliki beberapa warna unik seperti kuning, orange, biru, putih dan campuran beberapa warna¹⁷.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Tunicata *Polycarpa aurata*

Jenis sampel	Berat simplisia (g)	Volume pelarut (mL)	Berat Ekstrak (g)	Persen rendamen (%)
Tunicata <i>Polycarpa aurata</i>	200	1000	4,42	2,21

Penelitian ini diawali dengan Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode maserasi dengan proses ekstraksi secara bertingkat dengan mempertimbangkan kepolaran pelarut yang digunakan¹⁸. Pelarut yang digunakan yaitu

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol Tunicata *Polycarpa aurata* dengan KLT-Bioautografi

No.	Jumlah	Rf	Warna pada penampak bercak		Bakteri uji
			UV 254 nm	UV 366 nm	
1.	1	0,27	Hijau	Ungu	<i>Escherichia coli</i>
2.	1	0,27	Hijau	Ungu	<i>Salmonella typhi</i>

pelarut etanol (polar) yaitu perendaman dilakukan dengan menggunakan dengan pelarut etanol. Sampel yang diperoleh dari Kodingareng dikeluarkan organ dalamnya dan dibersihkan dengan menggunakan air laut, air tawar dan aquades kemudian dilanjutkan dengan pengeringan tanpa sinar matahari. Proses pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sampel yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi dan memudahkan mendapatkan ekstrak yang bebas dari air. Menurut¹⁹ kondisi kering pada sampel untuk menghindari adanya fermentasi mikroba, degradasi metabolitnya dan meminimalisir reaksi enzimatis (hidrolisis glikosida). Ukuran sampel yang kecil agar memaksimalkan pelarut dalam menarik senyawa bioaktif selama perendaman. Maserasi dilakukan dengan aseptis dan menghindari cahaya berlebih. Paparan sinar matahari yang terlalu lama dapat menyebabkan degradasi yaitu hilangnya senyawa yang tidak stabil dalam larutan. Selama maserasi dilakukan pengadukan berkala untuk memastikan seluruh bagian simplisia terendam dengan

baik. Hasil uji skrining dapat dilihat pada tabel 2

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak sampel Tunicata (*Polycarpa aurata*) terhadap bakteri infeksi saluran pencernaan dengan metode KLT-Bioautografi didapatkan 1 bercak aktif yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, 1 bercak aktif yang menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, Penghambatan ini ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitaran medium tempat lempeng berdifusi. Zona bening terbentuk karena adanya senyawa kimia aktif yang terdapat pada ekstrak etanol Tunicata (*Polycarpa aurata*) dan menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan.

Selanjutnya adalah pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol Tunicata *Polycarpa aurata* secara difusi agar sumuran. Tujuan di lakukan uji aktivitas antibakteri metode difusi agar yaitu untuk melihat seberapa besar zona hambat yang terbentuk. Zona hambat merupakan zona bening yang terbentuk disekitar lubang

Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol Tunicata *Polycarpa aurata* dengan metode difusi agar

Bakteri uji	Diameter Rata-Rata Zona Hambat (mm)				
	0,1%	0,5%	1%	2%	4%
<i>Escherichia coli</i>	7,313	7,7	8,15	9,62	12,55
<i>Salmonella typhi</i>	7,13	7,37	8,23	10,75	12,3

karena tidak adanya pertumbuhan bakteri yang disebabkan oleh adanya senyawa yang menghambat pertumbuhan bakteri. Pada pengujian ini, digunakan ekstrak etanol Tunicata *Polycarpa aurata* dengan konsentrasi 0.1%, 0.5%, 1%, 2%, 4%. Adapun hasil pengujian yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol Tunicata *Polycarpa aurata* dengan metode difusi agar diperoleh diameter terbesar untuk bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 4% yaitu sebesar 12,55 mm, dan untuk bakteri *Salmonella*

typhi pada konsentrasi 4% sebesar 12,3 mm. Perbedaan zona hambat disebabkan karena adanya kadar zat aktif yang berbeda dari setiap konsentrasi. Dimana semakin banyak zat aktif yang dilarutkan maka akan semakin besar zona hambat yang terbentuk, Menurut²¹, jika rata-rata diameter zona hambat ≤ 5 mm artinya kekuatan hambatnya lemah 5-10 mm kekuatan hambat sedang 10-20 mm, kekuatan hambatnya kuat dan jika ≥ 20 mm maka kekuatan hambatnya sangat kuat. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh bahwa ekstrak etanol 96% Tunicata *Polycarpa aurata* memiliki aktivitas antibakteri dan

Tabel 4. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol Tunicata *Polycarpa aurata* dengan metode KLT (penyemprotan)

No	Golongan senyawa	Ekstrak etanol	Pereaksi	Keterangan
1	Flavanioid	+	AlCl ₃ 10% (aluminium klorida)	Terbentuk bercak berwarna kuning
2	Tanin	+	FeCl ₃ (besi (III) klorida) 5%	Terbentuk bercak berwarna hitam
3	Triterpenoid	+	KOH	Terbentuk bercak berwarna kuning ke orange
4	Alkaloid	+	Dragendorf	Terbentuk endapan merah dan kuning
5	Saponin	+	Liebermann Burchard	Terbentuk bercak berwarna merah muda kecoklatan

Keterangan: (+) ada

untuk bakteri *Escherichia coli* memiliki kekuatan daya hambat kuat dan untuk bakteri *Salmonella typhi* memiliki kekuatan daya hambat kuat. Menurut²² hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol Tunicata *Polycarpa aurata* memiliki aktivitas daya hambat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* menggunakan metode difusi agar.

Ekstrak etanol *Polycarpa aurata* positif mengandung flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid, alkaloid dan saponin. Hasil ini didapatkan dengan melakukan pengujian KLT yaitu perubahan warna ekstrak pada lempeng KLT. Pengujian kualitatif ini dilakukan dengan melihat perubahan warna bercak ekstrak yang telah disemprotkan pada lempeng KLT untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid dan uji dengan melihat endapan stabil untuk mengidentifikasi alkaloid dan saponin.

Spesies *Polycarpa aurata* memproduksi golongan senyawa bioaktif berupa flavonoid pada pelarut etanol. Sehingga diduga golongan flavonoid pada *Polycarpa aurata* ini bervariasi seperti halnya pada ekstrak sirip ikan hiu oleh¹⁸. Diperoleh hasil positif mengandung flavonoid pada ekstrak metanol. Penelitian serupa juga dilakukan oleh²³ yang menyatakan bahwa lamun *Cymodocea rotundata* mengandung senyawa flavonoid. Golongan senyawa fenol seperti flavonoid

dibuktikan pada beberapa penelitian memiliki banyak manfaat sebagai agen kesehatan. Sebagai agen antibakteri pada konsentrasi yang rendah dapat merusak membran sitoplasma sehingga mengganggu kinerja enzim. Sedangkan pada konsentrasi yang tinggi dapat merusak membran sel sehingga tidak dapat diperbaiki lagi dan mendenaturasi sel bakteri²⁴. Flavonoid menyebabkan perubahan pada membran sel bakteri yang diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol ke dalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan sel bakteri dan pada akhirnya membran sel bakteri pecah²⁵.

Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristik yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lain²³ menunjukkan hasil pengamatan golongan senyawa tanin ditemukan sekitar 1,306% pada lamun *Cymodocea rotundata*. Tanin dikatakan merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme aktivitas enzaim. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan kemampuan tanin menginaktivasi molekul yang menempel pada inang yang terdapat pada permukaan sel, enzim yang terikat pada membran sel, dan polipeptida dinding sel. Tanin yang mempunyai target polipeptida dinding sel

menyebabkan kerusakan dinding sel, karena tanin merupakan senyawa fenol²⁶

Palanisamy *et al.*, (melaporkan bahwa penelitian terkait kandungan steroid pada ascidian sekitar 2% dari 580 struktur senyawa yang diidentifikasi dari ascidian. Organisme laut lain yang memiliki golongan senyawa steroid yang dominan yaitu *Fasciolaria salmo* (gastropoda)²⁸. Karotenoid, turunan dari terpenoid, adalah pigmen alami dari warna kuning ke merah yang ditemukan di banyak organisme termasuk ascidian²⁹. Terpenoid sebagai agen antibakteri dengan mengganggu membran sel bakteri. Mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba adalah dengan merusak membran plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian sel.

Ekstrak etanol *Polycarpa aurata* diketahui mengandung alkaloid berdasarkan uji yang telah dilakukan pada penelitian ini. Penelitian lain yang telah membuktikan bahwa *Polycarpa aurata* mengandung jenis alkaloid yaitu NNdisesmethylgrossularine-1, polycarpine dan polycarpin. Selain itu, jenis alkaloid lain yang ditemukan pada genus *Polycarpa aurata* berupa polikarpaurin A-C, polikarpamin A-E, polikarpin alkaloid disulfida dimerik, polycarpathiamines A dan B⁵. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen

penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh sehingga dapat menyebabkan kematian sel tersebut⁵.

Pada pengujian senyawa saponin karena senyawa ini bersifat amfifilik yaitu mampu membentuk ikatan lipid dari membrane sel³⁰. Saponin termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai kerangka karbon berdasarkan isoprena.

Saponin adalah 4647 jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Di sisi lain saponin ini diidentifikasi terdapat pada ikan hiu *Carcharhinus melanopterus* dan anemon laut *Stichodactyla gigantea*¹⁸. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun. Beberapa saponin juga bekerja sebagai antimikroba. Senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar³¹.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa Hasil aktivitas antibakteri dari ekstrak Tunicata (*Polycarpa aurata*) memiliki potensi menghambat aktivitas antibakteri penyebab penyakit infeksi saluran pencernaan dengan metode KLT-

Bioautografi dan difusi agar. Profil bioautografi aktivitas antibakteri ekstrak sampel Tunicata (*Polycarpa aurata*) terhadap bakteri infeksi saluran pencernaan dengan metode KLT-Bioautografi didapatkan 1 bercak aktif yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, 1 bercak aktif yang menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, Penghambatan ini ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitaran medium tempat lempeng berdifusi. Konsentrasi ekstrak etanol Tunicata (*Polycarpa aurata*) di dapatkan paling menghambat pada konsentrasi 4% karena memiliki zona hambat yang luas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cahyani, N.M.E. Daun Kemangi (*Ocimum Cannum*) Sebagai Alternatif Pembuatan Handsanitizier. J. Kesehat. Masy.2014;9, 136–142.
2. Astriani, N.K., Chusniasih, D., Marcellia, S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hytrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ilmu Kedokt. Dan Kesehat.2021;8, 6.
3. Pitoy, N. A., Yudistira, A., & Wewengkang, D. S. Uji Antimikroba Ekstrak Dan Fraksi Tunicata *Didemnum Molle* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Dan *Candida albicans* Yang Dikoleksi Di Selat Lembeh Bitung. Pharmacon, 2019;8(2), 275.
4. September, V. N. Jurnal Pasir Laut Jurnal Pasir Laut, 2020;4(2).
5. Pham, C. D., H., Weber, R., Hartmann, V., Wray, W., Lin, D., Lai, And P. Proksch. New Cytotoxic 1,2,4-Thiadiazole Alkaloids From The *Tunikata Aurata* Org.Lett, 2013;15(9):2230-2233.
6. Schmidt, E. W And M. S. Donia. *Life In Cellulose Houses: Symbiotic Bacterial Biosynthesis Of Ascidian Drugs And Drug Leads*. *Curr. Opin. Biotechnol*, 2010;21: 827-833.
7. Lambert, G. *Relaxing, And Fixing Tunikata For Taxonomi*. Departements Edu. Washington, 2004.
8. Christine, G. Potensi Tunicata *Polycarpa aurata* Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri. Skripsi. Universitas Hasanuddin, Makassar, 2015.
9. Radjasa, O.K., Y.M. Vaske, G. Navarro, H.C. Vervoort, K.Tenney, R.G. Linington, P. Crews. *Highlights Of Marine Invertebrate-Derived Biosynthetic Products: Their Biomedical Potential And Possible Production By Microbial Associants*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2011;19: 6658–6674Rahmadani, F. Uin Syarif Hidayatullah Jakarta. Uin Syarif Hidayatullah Jakarta, 2015.
10. Erwin, P. M., M. C. Pineda, N.Webster, X.Truon, S. López-Legentil. *Down Under The Tunic: Bacterial Biodiversity Hotspots And Widespread Ammonia-Oxidizing Archaea In Coral Reef Ascidians*. *Isme J*, 2015;8:575-588.
11. Opa, S.L., Robert, A.B., Grevo, S.G., Rizald, M.R., Rosita,A.J.L., & Deiske, A. S. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Metanol Dan Air dari *Ascidian lissoclinum Sp*. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 2018;1(1):69–80
12. Zainuddin, E.N., Hilal, A., Huyyirnah, H., Ridha, H. & Dolores, V. *Antibacterial Activity of Caulerpa Racemosa Against Pathogenic Bacteria Promoting 'Ice-Ice' Disease in The Red Alga Gracilaria Verrucosa*. *Journal Of Applied*

- Phycology, 2018;30(1).
13. Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (*Black garlic*) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 2020;13(1),39–50.
 14. Biologycals, D. *McFarland Standard*. Catalogue, 2014;No. TM50-TM60.
 15. Herwin, H., Isolasi Fungi Endofit Penghasil Antibiotika pada Alga Merah Jenis *Gracilaria verrucosa* secara KLT-Bioautografi. *As-Syifaa J. Farm*, 2018;10, 83-91.
 16. Mawaleda, R. Distribusi dan Preferensi Habitat Urochordata Skripsi Oleh : Rahmat Mawaleda. Universitas Hasanuddin Makassar, 2014.
 17. Ayuningrum, D., Rhesi, K., Ayunda, A. N., Septhy, K.R., Sakti, I.M., Ocky, K. R., Agus, S.& Agus, T. *Bacteria Associated with Tunicate, Polycarpa aurata, from Lease Sea, Maluku, Indonesia Exhibiting Anti-Multidrug Resistant Bacteria*. *Biodiversitas*, 2019;20(4):956–64
 18. Iffah, A. A. Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Sirip Ekor Hiu *Carcharhinus melanopterus* dan Uji Aktivitas Sebagai Antibakteri Terhadap *Vibrio parahaemolyticus*. Skripsi. Makassar: Universitas Hasanuddin, 2018.
 19. Veronique S. *Natural Products Isolation: An Overview*. *Natural Products Isolation Methods In Molecule Biology*, 2018;864:27–41.
 20. Romsiah., Utami, P D., Identifikasi Sakarin Dan Siklambat Pada Minuman Es Tidak Bermerk Yang Dijual Di Pasar 16 Ilir Palembang Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 2018;Vol 3. No 1., 51.
 21. Samosir, S A., Bialangi, N., Iyabu, H., Analisis Kandungan Rhodamin B Pada Saos Tomat Yang Beredar Di Pasar Sentral Kota Gorontalo Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Entropi*, 2018;Vol 13. No 1., 48.
 22. Yutika M, Rusli R, Ramadhan Am. Aktivitas Antibakteri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob.) Terhadap Bakteri Gangren. *Proceeding Of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 2015;2(1):75-81.
 23. Septiani, Eko, N.D & Ima, W. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lamun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Indonesian Journal Of Fisheries Science and Technology (IJFST)*. *Saintek Perikanan*, 2017.13(1):1–6.
 24. Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. *Dasar-Dasar Mikrobiologi II*. Universitas Indonesia Press. Jakarta, 1998. 192 hal
 25. Maulita C.N., Enny, P.A., & Sumantri. Antibacterial Activities of Ethyl Acetate Fraction of Methanol Extract From Sosor Bebek Leaves (*Kalanchoe pinnata* Pers.). *MEDIAGRO* , 2010. 6(2):51–61
 26. Fitri, Z.M., Kismiyati & Ahmad, S. M. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Api-Api (*Avicennia alba*) Terhadap *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis Secara *Invitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 2018. 10(2):131–36
 27. Palanisamy, S. K., N. M. Rajendran & Angela M. *Natural Products Diversity of Marine Ascidiates (Tunicates; ascidiacea) and Successful Drugs in Clinical Development*. *Natural Products and Bioprospecting*, 2017. 7(1)
 28. Nurjana, Asdatun, A., & Azwin, A. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong-Ipong (*Fasciolaria salmo*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 2011.14:21–29
 29. Mao, X., Zhen, L., Jianan, S., & Sang, Y. L.

Metabolic Engineering For The Microbial Production Of Marine Bioactive Compounds. Biotechnology Advances, 2017. 1– 18.

30. Dewiningsih, K., Ita, W., & Wilis, A. S. Skrining Aktivitas Antibakteri Pada Ekstrak Metanol Jaringan Lunak Kerang Darah (*Anadara granosa*) Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Enggano, 2017. 2(2):229–38*
31. Trisia, A., Regina, P. & Angeline, N. Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract from Kalanduyung Leaf (*Guazuma ulmifolia* Lam.) on *Staphylococcus aureus* Growth with Difussion Method (*Kirby-Bauer*). *Anterior Jurnal, 2018. 17(2):136–43*