

Penelusuran Aktifitas Antibakteri Ekstrak Kerang *Anadara ferruginea* Terhadap Bakteri Patogen

Delianis Pringgenies*), Risman Efendi*) dan A. Suprihadi **)

Abstrak

Resistensi mikroorganisme patogen terhadap senyawa antibiotik semakin meningkat, hal ini menimbulkan masalah besar dalam dunia kesehatan, sehingga perlu dicari alternatif lain untuk mencari antibiotik baru untuk mengatasi mikroorganisme patogen yang resisten. Organisme invertebrata laut merupakan salah satu penyusun utama dalam keanekaragaman hayati laut. Rantai makanan yang terjadi dalam ekologiannya menyebabkan terdapatnya banyak interaksi-interaksi penting, saling kebergantungan dan berbagai kemampuan biogenetik dari berbagai organisasinya yang salah satu organisasinya adalah kerang *Anadara ferruginea* dari moluska. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi ekstrak kerang *Anadara ferruginea*. Pelaksanaan penelitian dengan melakukan proses ekstraksi dengan metode ekstrak padat-cair (solid-liquid). Fraksifikasi dilakukan menggunakan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT). Uji sensitifitas antibakteri menggunakan metode difusi agar menurut Kirby-bauer. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri pathogen jenis , *Bacillus cereus*, *Escheria coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ada 9 fraksi yang memiliki aktifitas antibakteri terhadap dan uji sensitifitas antibakteri terhadap empat bakteri uji *Bacillus cereus*, *Escheria coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Dari kesembilan fraksi tersebut hanya fraksi III merupakan fraksi yang paling aktif terhadap bakteri dengan bakteri *Bacillus cereus*, *Escheria coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata zona hambatan secara berurutan untuk ketiga bakteri diatas adalah sebesar 7,03 mm; 6,97 mm; 6,13 mm. Sedangkan fraksi 9 diketahui memiliki senyawa yang paling aktif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan rata-rata zona hambatan sebesar 7,00 mm gabungan hasil fraksinasi lanjutan FC-3, diketahui bahwa fraksi gabungan ke-2 (FC-3.2) adalah fraksi yang paling aktif menghambat pertumbuhan ke-empat bakteri uji dengan diameter zona hambatan terbesar juga diperoleh pada uji bakteri *Staphylococcus aureus* (inkubasi 24 jam), yakni $(11,11 \pm 0,02)$ mm

Key Word: *Anadara ferruginea*, ekstraksi, aktivitas antibakteri, bakteri pathogen

*) *Jur. Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Padjadjaran, Bandung*

**) *Jur. Biologi, Fak. MIPA, Universitas Diponegoro, Semarang*

PENDAHULUAN

Antibiotik telah memberikan kontribusi sebagai kontrol terhadap infeksi bakteri yang menyerang manusia maupun organisme lainnya. Namun sejalan dengan perkembangan dan penggunaannya terdapat banyak bakteri-bakteri patogen yang menjadi resisten terhadap antibiotik yang ada. Penggunaan antibiotik akan memunculkan mikroorganisme resisten tidak hanya mikroorganisme yang menjadi target antibiotik tersebut, tetapi juga mikroorganisme lain yang memiliki habitat yang sama dengan mikroorganisme target. Hal ini dimungkinkan karena adanya transfer materi genetik plasmid atau transposon diantara genus bakteri yang berbeda yang masih memiliki hubungan yang dekat, misalnya genus *Escherichia*, dan *Salmonella* (Lisdar, 1997).

Berdasarkan hasil studi tentang mekanisme epidemiologi menunjukkan bahwa bakteri memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan lingkungan yang mengandung antibiotik. Mekanisme resistensi bakteri meliputi mutasi, penghambatan aktivitas antibiotik secara enzimatik, perubahan protein yang merupakan target antibiotik, perubahan jalur metabolik, dan perubahan permeabilitas membran. Beberapa mikroorganisme yang resisten misalnya pada bakteri *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *S. aureus* dan bakteri patogen lainnya melalui mekanisme penghambatan aktivitas antibiotik secara enzimatik (Lisdar, 1997).

Anadara ferruginea diketahui berpotensi sebagai salah satu sumber bahan makanan bagi manusia, selain itu *Anadara ferruginea* juga berpotensi mengandung senyawa bioaktif. Senyawa Paolin I dan Paolin II adalah beberapa senyawa bioaktif yang ditemukan dari kerang *Anadara ferruginea*. Kedua senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas biologi sebagai antivirus dan antibakteri terhadap bakteri yang bersifat patogen (Soediro, 1993). Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi ekstrak kerang *A. ferruginea* terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*.

METODE

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode purposif yaitu suatu metode pengambilan sampel yang dilakukan dengan mengambil subyek bukan berdasarkan atas strata, random atau daerah tetapi berdasarkan atas adanya tujuan tertentu (Arikunto, 1993).

Sampel *Anadara ferruginea* diambil dari kawasan Pantai Bandengan Jepara pada bulan Maret 2006. Untuk memisahkan kerang *Anadara ferruginea* dari spesies kerang lainnya dilakukan identifikasi. Ciri khas yang dimiliki oleh *Anadara ferruginea* adalah lapisan luar dari cangkang dengan garis radial, biasanya dilewati oleh garis-garis konsentris. Mempunyai periostracum, biasanya tipis dan berfibril, berlamela sampai berambut halus (Ruppert, and. Barnes., (1991),

Sampel yang diambil adalah *Anadara ferruginea* dewasa yakni berukuran antara 6-8 cm, hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan hasil ekstrak yang terbaik karena metabolit sekunder kerang dewasa akan lebih maksimal dibandingkan kerang yang masih kecil. Sampel *Anadara ferruginea* dipisahkan dari cangkangnya selanjutnya dicuci dengan air sampai benar-benar bersih dari kotoran dan substrat yang menempel. Sampel kemudian dikeringkan didalam lemari pengering.

Preparasi sampel

Sampel yang sudah dikeringkan selanjutnya dipotong-potong ± 1 cm. setelah itu sampel dihaluskan dengan menggunakan blender. Sampel yang sudah halus selanjutnya ditimbang dan siap untuk direndam dengan pelarut.

Ekstraksi sampel

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi padat-cair (solid-liquid) dengan menggunakan *rotavapour* sebagai alat untuk melakukan ekstraksi (Pavia *et al.*, 1995). Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam 200 gram sampel halus dalam 1000 mL pelarut n-hexane hingga semua sampel terendam dan didiamkan dalam suhu ruangan selama 24 jam. Setelah itu disaring dengan kertas saring. Ampas kemudian direndam kembali dengan pelarut n-hexane ± 2 jam, sedangkan filtratnya dievaporasi dengan *rotavapour* pada suhu

42 °C. Perendaman diulangi sampai tidak terjadi perubahan warna. Ekstrak dipindahkan dari *erlenmeyer flask* kedalam botol *vial*, kemudian dikeringkan lagi dengan *rotavapour*. Ampas sampel yang telah direndam dengan n-hexane kemudian direndam lagi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan metanol secara berurutan. Selanjutnya dilakukan perlakuan yang sama terhadap rendaman etil asetat maupun rendaman metanol (Burgess *et al.*, 2003).

Berat ekstrak selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus :

$$W_e = W_{v_2} - W_{v_1}$$

dimana : W_e = berat ekstrak
 W_{v_1} = berat vial kosong
 W_{v_2} = berat vial setelah diisi ekstrak

Persen kandungan ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus :

$$C_e = \frac{W_2}{W_1} \times 100 \%$$

dimana : C_e = persen berat kandungan ekstrak dalam sampel
 W_2 = berat ekstrak
 W_1 = berat sampel

Uji kontrol positif dan uji kontrol negatif

Uji kontrol positif dilakukan dengan menggunakan antibiotik *Ceftizoxime sodium* yang diujikan terhadap keempat bakteri uji dengan konsentrasi 50 µg/disk. Hal ini bertujuan untuk mengetahui adanya diameter zona hambatan yang terbentuk oleh antibiotik *Ceftizoxime sodium*.

Uji kontrol negatif dilakukan dengan menggunakan ketiga pelarut yakni ; n-hexane, etil asetat, dan metanol terhadap bakteri uji. Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut dalam pembentukan diameter zona hambatan.

Uji kualitatif aktivitas antibakteri ekstrak *A. ferruginea* terhadap bakteri uji

Uji kualitatif aktivitas antibakteri ekstrak *A. ferruginea* terhadap bakteri uji dilakukan dengan menggunakan 0,1 gram ekstrak kasar secara langsung. Pengamatan zona hambatan dilakukan setelah inkubasi 24 jam.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis dimaksudkan untuk memperkirakan jumlah senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar berdasarkan jumlah noda yang terbentuk. Selain itu Kromatografi Lapis Tipis juga bertujuan untuk mencari eluen yang cocok dalam pemisahan senyawa yang terkandung dalam ekstrak, yang nantinya akan digunakan untuk pemisahan senyawa dengan metode Kromatografi Kolom Terbuka (KKT). Analisis dilakukan dengan fasa diam silika gel dan fasa gerak etil asetat, etil asetat dengan metanol, serta campuran etil asetat dengan n-hexane. KLT dilakukan dengan menggunakan pelat silika gel yang berukuran 1 cm x 5 cm. Pada salah satu ujung dibuat garis-garis 0,5 cm sebagai titik awal sedangkan, pada ujung yang lain dibuat garis sebagai titik akhir. Eluen yang akan digunakan adalah etil asetat, etil asetat dengan metanol, serta campuran etil asetat dengan n-hexane dalam berbagai perbandingan. Kemudian dimasukkan kedalam gelas *beaker*. Ekstrak sampel ditotolkan pada pelat KLT dengan menggunakan pipet kapiler. Setelah itu pelat dimasukkan kedalam gelas *beaker* tetapi *spot* tidak sampai terendam dalam eluen, kemudian gelas *beaker* ditutup rapat sampai eluen mencapai titik akhir. Pelat diangkat dan dikeringkan. Noda yang terbentuk ditandai kemudian dicelupkan pada larutan Vanilin Asam Sulfat dan dipanaskan dengan *hot plate*. Diamatai noda yang terbentuk dan dicatat nilai Rf nya.

Proses diatas diulangi dengan variasi perbandingan volume eluen. Eluen yang digunakan adalah etil asetat, etil asetat dan metanol, etil asetat dan n-hexane. Perbandingannya ditampilkan oleh Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan volume eluen

No	Pelarut	Perbandingan
1	Etil Asetat	
2	Etil Asetat : Metanol	20 : 1
3	Etil Asetat : Metanol	10 : 1
4	Etil Asetat : Metanol	10 : 2
5	Etil Asetat : Metanol	10 : 5
6	Etil Asetat : N-hexane	20 : 1
7	Etil Asetat : N-hexane	10 : 1
8	Etil Asetat : N-hexane	10 : 2
9	Etil Asetat : N-hexane	10 : 5

Setelah spot dalam pelat terlihat jelas, dilakukan pengukuran jarak pemisahan spot dan dihitung nilai Rf (Retardation factor). Harga Rf didefinisikan sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak spot dari garis awal}}{\text{Jarak garis awal sampai garis akhir}}$$

Eluen yang menunjukkan pola noda (spot) yang terbaik adalah etil asetat : metanol dengan perbandingan (10 : 1). Eluen tersebut akan digunakan dalam uji Kromatografi Kolom Terbuka (KKT).

Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT)

Kromatografi Kolom Terbuka bertujuan untuk memisahkan (fraksinasi) komponen-komponen ekstrak berdasarkan kepolarannya. Sebanyak 2 gram ekstrak *A. ferruginea* difraksinasi dengan KKT menggunakan silika gel 60 (0,2 – 0,5 mm) Merck sebanyak 60 gr sebagai *adsorbent* (fasa diam). Eluen yang digunakan adalah etil asetat dan metanol dengan perbandingan (10 : 1). Eluat ditampung dalam gelas *beaker* dengan volume masing-masing 20 mL. Tiap-tiap gelas tampungan diuji dengan KLT, kemudian diamati noda (spot) yang terbentuk. Hasil KLT yang menunjukkan pola noda yang sama lalu dikelompokkan dalam satu fraksi. Fraksi yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotavapour* (Taughtone dan Murrell, 1983).

Uji sensitivitas antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar atau metode cakram (agar disc-diffusion method) menurut prinsip Kirby-Bauer. Prinsip dari metode ini adalah penghambatan pertumbuhan mikroorganisme yang diketahui dari daerah sekitar paper disk yang tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali. Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh terbentuknya zona penghambatan pertumbuhan mikroorganisme disekitar cakram (Volk dan Wheeler, 1990).

Kultivasi Bakteri

Satu ose isolat bakteri uji masing-masing diinokulasikan ke dalam 5 ml media NB (Nutrient Broth), lalu dinkubasi 37⁰C selama 24 jam. Sebanyak 10 µL kultur 24 jam tersebut diambil dan diinokulasikan ke dalam 10 mL media NB dan diinkubasi 37⁰C sampai akhir fase logaritmik untuk bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* adalah 12 jam, sementara bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* adalah 16 jam. Dari hasil TPC, jumlah bakteri pada akhir fase log tersebut adalah 4.7x10¹⁶, 2.1x10¹⁸, 2.5x10¹⁸, 1.6x10¹⁷ CFU/mL berturut-turut untuk *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus*.

Uji antibakteri dengan difusi agar

Metode yang digunakan mengacu pada (Brock, T.D. and Madigan, M.T. 1991). Media agar NA sebanyak 20 mL dituang kedalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Dibuat inokulum bakteri uji pada media Nutient Broth (NB) dengan kepadatan 10¹⁵ CFU/mL yang diinkubasi selama 24 jam, inokulum kemudian diinokulasikan keatas media NA yang telah disiapkan dalam cawan petri sebanyak 0,1 mL menggunakan *micropipet* lalu diratakan dengan metode *Spread* menggunakan *L glass*.

Masing-masing fraksi dibuat dengan konsentrasi 5 mg/mL dalam pelarut etil asetat : metanol dengan perbandingan 10 : 1. Uji sensitivitas dilakukan dengan meneteskan 10 µL larutan uji dengan konsentrasi 5 mg/mL pada *paper disk* sehingga didapat kuantitas ekstrak uji yang diberikan adalah 50 µg/disk. Inkubasi dilakukan selama 4 x 24 jam pada suhu 37 °C. Diamati diameter zona hambatan

yang terbentuk disekitar kertas cakram dan diukur tiap 24 jam, selama 4 x 24 jam dengan menggunakan jangka sorong. Selanjutnya diameter zona hambatan yang terbentuk dikurangi dengan diameter *paper disk* (6 mm).

HASIL

Ekstraksi sampel

Hasil yang didapatkan dari proses ekstraksi ditampilkan pada Tabel 2.

Berat dan persentase hasil ekstraksi.

Tabel 2. Hasil Proses Ekstraksi

Pelarut	Berat ekstrak (gram)	Persentase (%)	Bentuk	Warna	Bau
N-hexane	10.78	5.39	Pasta	Hijau tua	Amis
Etil asetat	13.06	6.53	Pasta	Hijau tua	Amis
Metanol	21.22	10.61	Pasta	Hijau tua	Amis

Hasil ekstraksi dengan pelarut metanol merupakan ekstrak yang paling banyak dengan berat 21.22 gram, sedangkan ekstrak paling sedikit adalah ekstraksi dengan pelarut n-hexane dengan berat 10.78 gram. Hal ini menunjukkan sampel *A. ferruginea* lebih banyak mengandung senyawa polar, ini dilihat dari Tabel. 5 dimana berat ekstrak dengan pelarut metanol lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-hexane.

Uji kontrol positif dan kontrol negatif

Uji kontrol positif dilakukan untuk mengetahui kebenaran adanya diameter zona hambatan yang terbentuk oleh antibiotik komersial. Pada uji kontrol positif ini antibiotik yang digunakan adalah *Ceftizoxime sodium*. Hasil uji tersebut disajikan oleh Tabel 3.

Tabel 3. Diameter zona hambatan bakteri uji terhadap *Ceftizoxime sodium*

Bakteri Uji	Diameter zona hambatan (mm)			
	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
<i>Bacillus cereus</i>	5.79	6.59	6.97	7.65
<i>Escherichia coli</i>	4.62	4.52	4.56	5.14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.2	6.81	7.09	7.38
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.62	4.52	4.56	5.51

Keterangan : Nilai diatas telah dikurangi diameter kertas cakram

Hasil uji *Ceftizoxime sodium* terhadap bakteri uji (Tabel 3) dapat diketahui bahwa *Ceftizoxime sodium* sebagai antibiotik mampu membentuk diameter zona hambatan pada semua bakteri uji. Aktivitas *Ceftizoxime sodium* paling tinggi adalah pada bakteri *P. aeruginosa*, sedangkan aktivitas *Ceftizoxime sodium* terendah adalah terhadap bakteri *S. aureus*.

b. Uji kontrol negatif

Uji kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pelarut n-hexane, etil asetat, dan metanol dalam pembentukan zona hambatan terhadap bakteri uji. Apabila kontrol negatif mengalami pembentukan diameter zona hambatan maka hasil pengukuran diameter zona hambatan pada perlakuan dikurangi dengan diameter zona hambatan dari pelarut tersebut. Hasil uji kontrol negatif ditampilkan oleh Tabel 4.

Hasil uji pelarut menunjukkan bahwa uji pengaruh pelarut n-hexane, etil asetat, dan metanol terhadap bakteri uji yaitu bakteri *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus* tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

Uji kualitatif aktivitas antibakteri ekstrak *Anadara ferruginea* terhadap bakteri uji

Uji kualitatif aktivitas antibakteri ekstrak *A. ferruginea* dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar sebanyak 0,1 gram yang diujikan terhadap bakteri uji yaitu bakteri *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, maupun *S. aureus*.

Hasil uji kualitatif aktivitas antibakteri disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji kualitatif aktivitas antibakteri bakteri uji terhadap ekstrak *A. ferruginea*

Bakteri Uji	Diameter zona hambatan (mm)		
	N-hexane	Etil Asetat	Metanol
<i>B. cereus</i>	+	+	+
<i>E. coli</i>	-	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+	+

Keterangan : + = terbentuk zona hambatan

- = tidak terbentuk zona hambatan

Dari hasil uji kualitatif ekstrak *A. ferruginea* terhadap bakteri uji diketahui bahwa ekstrak kasar *A. ferruginea* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*. Berdasarkan uji pelarutnya tampak bahwa ekstrak kasar *A. ferruginea* dengan pelarut n-hexane tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* akan tetapi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. cereus* dan *S. aureus*. Sedangkan ekstrak kasar *A. ferruginea* dengan pelarut etil asetat dan metanol menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, maupun *S. aureus*.

Uji penentuan eluen dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil pemisahan komponen dan nilai Rf pada KLT disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Nilai Rf komponen masing-masing eluen

No	Pelarut	Perbandingan	Jumlah spot	Nilai Rf
1	Etil asetat		4	0.10 ; 0.37 ; 0.49 ; 0.66
2	Etil asetat : metanol	20 : 1	3	0.33 ; 0.62 ; 0.71
3	Etil asetat : metanol	10 : 1	9	0.24 ; 0.36 ; 0.43 ; 0.45 ; 0.52 ; 0.56 ; 0.61 ; 0.62 ; 0.68
4	Etil asetat : metanol	10 : 2	6	0.62 ; 0.68 ; 0.71 ; 0.74 ; 0.80 ; 0.85
5	Etil asetat : metanol	10 : 5	3	0.55 ; 0.87 ; 0.96
6	Etil asetat : n-hexane	20 : 1	2	0.28 ; 0.45
7	Etil asetat : n-hexane	10 : 1	6	0.16 ; 0.19 ; 0.24 ; 0.26 ; 0.28 ; 0.37
8	Etil asetat : n-hexane	10 : 2	5	0.18 ; 0.27 ; 0.28 ; 0.29 ; 0.33 ; 0.35
9	Etil asetat : n-hexane	10 : 5	2	0.30 ; 0.31

Berdasarkan Tabel 5 diketahui bahwa perbandingan pelarut yang optimal untuk pemisahan senyawa adalah etil asetat : metanol dengan perbandingan 10 : 1.

Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT)

Sebanyak 2 gram ekstrak *A. ferruginea* dielusi melalui KKT. Hasil pemisahan secara kromatografi kolom didapatkan 58 tabung dengan volume masing-masing tabung 20 mL, selanjutnya dianalisa pola pemisahan

komponennya dengan KLT dan dihitung nilai Rf-nya. Hasil kromatografi dikelompokkan berdasarkan nilai Rf-nya maka didapatkan 9 fraksi. Fraksi tersebut kemudian diuapkan menggunakan *rotavapour*. Hasil dari fraksinasi dengan KKT dan KLT disajikan pada Tabel 8 dan Tabel 6.

Tabel 6. Pengelompokkan fraksi hasil Kromatografi Kolom Terbuka (KKT).

No beker glas	Fraksi	Berat (gram)	Rf
1 – 4	I	0.3772	0.458 ; 0.586 ; 0.639 ; 0.681 ; 0.742
5 – 7	II	0.0886	0.637 ; 0.689 ; 0.707
8 – 14	III	0.3829	0.664 ; 0.688 ; 0.725 ; 0.746 ; 0.784 ; 0.985
15 – 21	IV	0.1754	0.466 ; 0.597 ; 0.655 ; 0.672
22 – 25	V	0.0965	0.381 ; 0.566 ; 0.621
26 – 33	VI	0.0847	0.373 ; 0.512 ; 0.544 ; 0.581
34 – 37	VII	0.1781	0.285 ; 0.466 ; 0.557 ; 0.633 ; 0.715
38 – 46	VIII	0.0851	0.379 ; 0.631 ; 0.679
47 – 58	IX	0.5238	0.256 ; 0.357 ; 0.467 ; 0.489 ; 0.536 ; 0.614

Hasil fraksinasi dengan KKT menunjukkan bahwa fraksi IX merupakan fraksi yang paling banyak dengan berat 0.5238 gram, sedangkan fraksi yang paling sedikit adalah fraksi VI dengan berat 0.0847 gram.

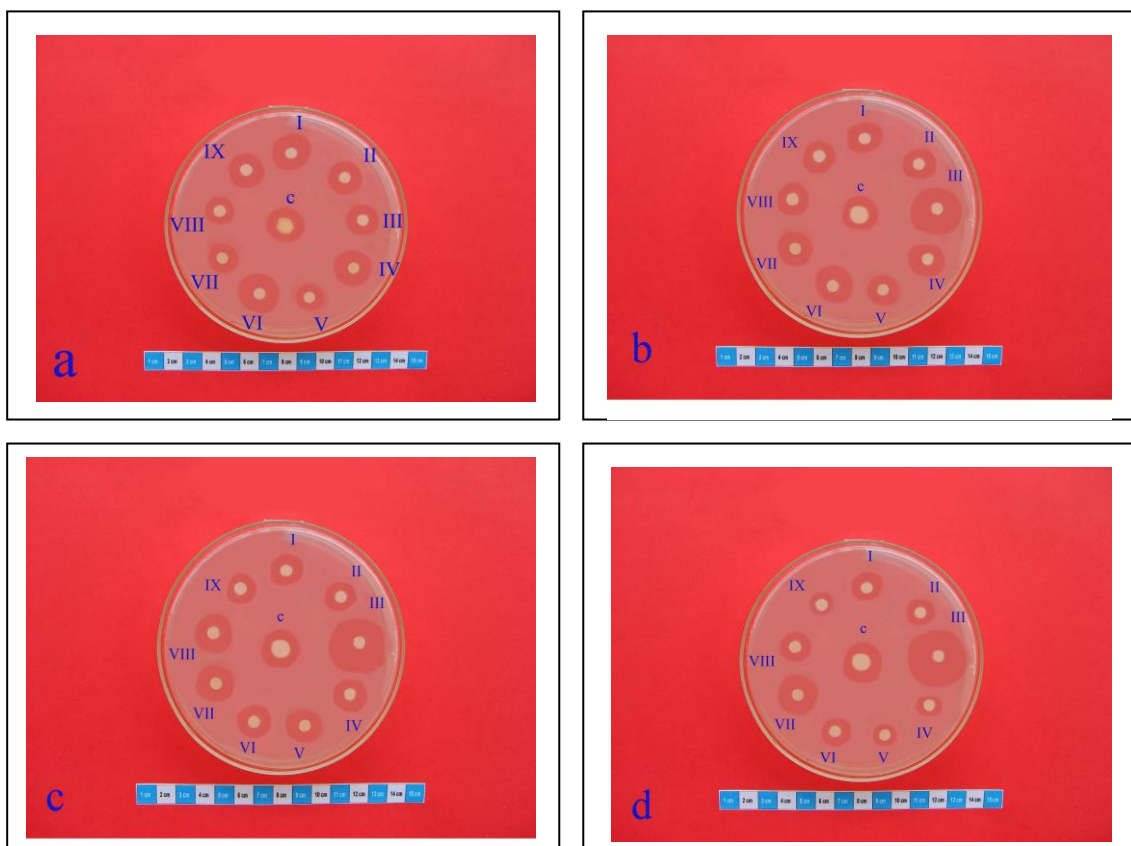
Uji Sensitivitas Antibakteri Bakteri Uji Terhadap Hasil Fraksinasi Kromatografi Kolom Terbuka.

Fraksi-fraksi yang diperoleh dari Kromatografi Kolom Terbuka diuji kembali aktivitas antibakterinya terhadap keempat bakteri uji yaitu : *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*. Hasil uji sensitivitas antibakteri dari fraksi dianggap positif apabila terbentuk diameter zona hambatan disekitar kertas cakram. Hasil uji sensitivitas ini ditampilkan pada Tabel 6, Tabel 7, Tabel 8 dan Tabel 9. Grafik konsentrasi fraksi terhadap zona hambatan ditunjukkan pada Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4.

a. Uji sensitivitas bakteri *B. cereus*

Uji sensitivitas terhadap bakteri *B. cereus* menunjukkan bahwa bakteri *B. cereus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap semua fraksi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 8. Fraksi III, IV, dan VII mengalami kenaikan zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Sementara fraksi I, II, VI, dan IX

mengalami penurunan zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Sedangkan fraksi V dan VIII mengalami kenaikan zona hambatan mulai dari 24 jam masa inkubasi hingga 72 jam masa inkubasi akan tetapi mengalami penurunan pada masa inkubasi 96 jam (Tabel 6). Dari sembilan fraksi diketahui fraksi III yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri uji, dan fraksi yang memiliki aktivitas terendah terhadap bakteri uji adalah fraksi V.



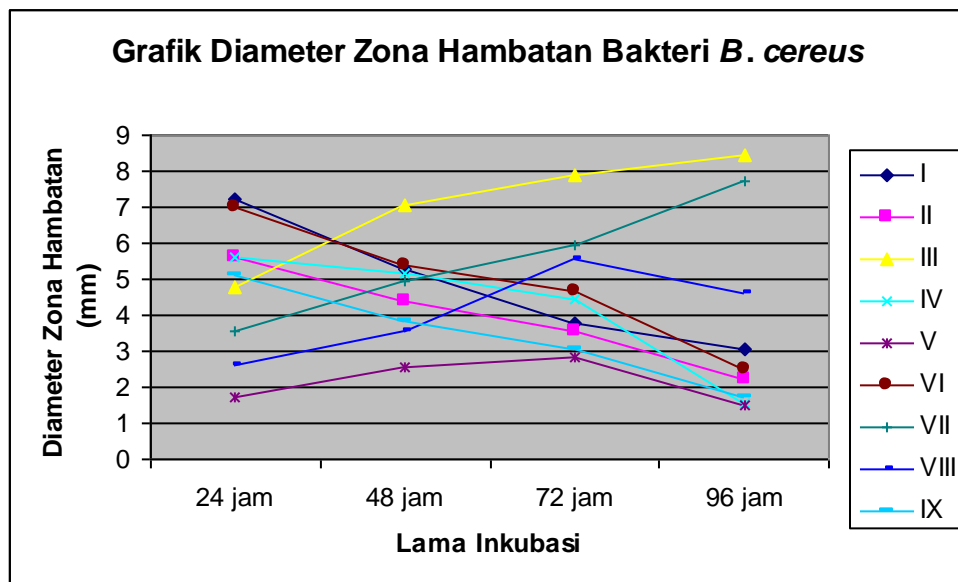
Gambar 1. Zona Hambatan Bakteri *B. cereus* pada masa inkubasi: 24 jam (a), 48 jam (b), 72 jam (c), dan 96 jam (d) Terhadap Fraksi Ekstrak *A. ferruginea* dengan konsentrasi 50 µg / disk

Tabel 7. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri *B. cereus* Terhadap Fraksi I – IX

Fraksi	Diameter Zona Hambatan (mm)			
	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
I	7,24 ± 0,98	5,27 ± 0,97	3,77 ± 0,36	3,07 ± 0,1
II	5,61 ± 0,46	4,41 ± 0,49	3,54 ± 0,34	2,20 ± 0,17
III	4,76 ± 0,24	7,05 ± 0,36	7,88 ± 0,23	8,44 ± 0,46
IV	5,62 ± 0,36	5,14 ± 0,10	4,46 ± 0,17	1,58 ± 0,22
V	1,71 ± 0,31	2,56 ± 0,30	2,84 ± 0,15	1,50 ± 0,14
VI	7,00 ± 0,17	5,37 ± 0,21	4,66 ± 0,25	2,49 ± 0,28
VII	3,54 ± 0,14	4,96 ± 0,20	5,93 ± 0,39	7,72 ± 0,46
VIII	2,59 ± 0,30	3,53 ± 0,37	5,57 ± 0,35	4,60 ± 0,31
IX	5,12 ± 0,14	3,86 ± 0,09	3,08 ± 0,08	1,70 ± 0,24

Keterangan :

- Rata-rata ± SD
- SD = Standar Deviasi
- Nilai sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram

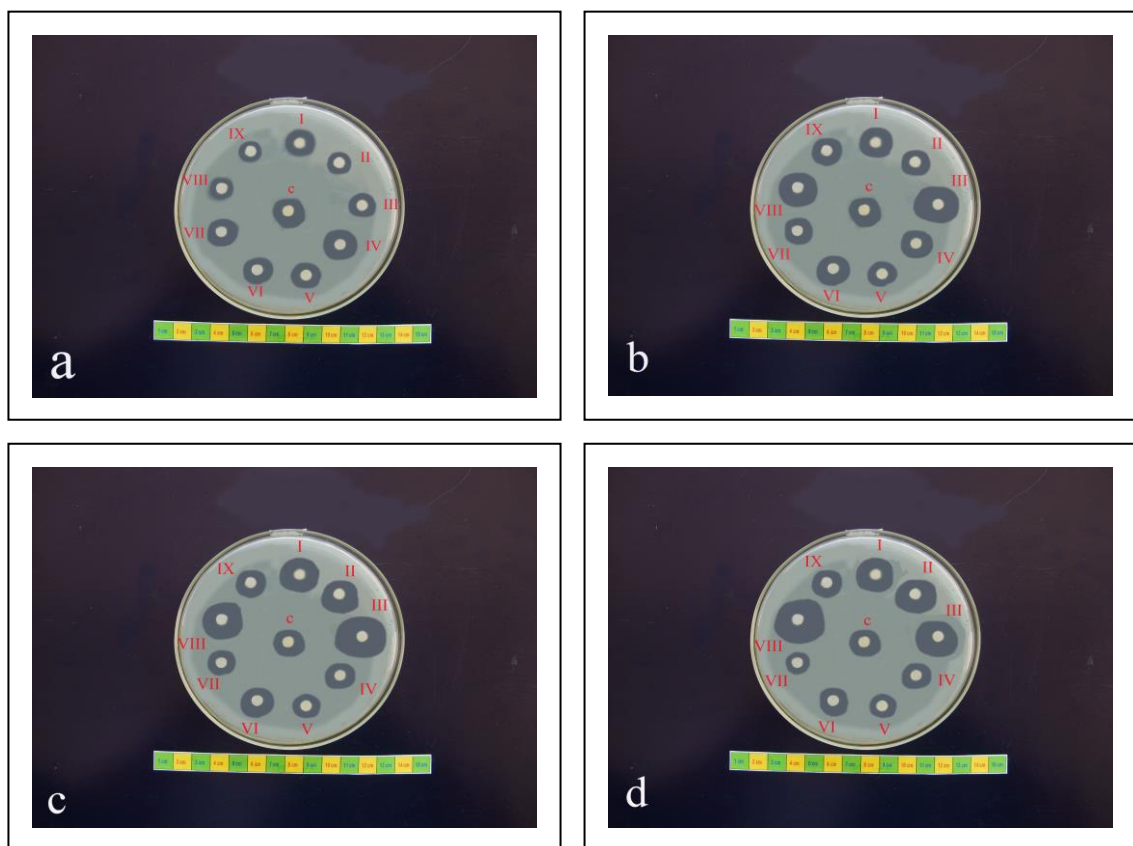


Gambar 2. Grafik Diameter Zona Hambatan Bakteri *B. cereus*

b. Uji sensitivitas bakteri *E. coli*

Dari hasil dari uji sensitivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* (Gambar 3.) terlihat bahwa bakter uji memiliki aktivitas antibakteri terhadap

fraksi I – IX. Fraksi I, II, III, VIII, dan IX mengalami kenaikan diameter zona hambat seiring bertambahnya masa inkubasi. Fraksi IV, V, dan VII mengalami penurunan diameter zona hambat seiring bertambahnya masa inkubasi. Sementara fraksi VI mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam hingga 48 jam tetapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 72 jam dan 96 jam. Fraksi III memiliki aktivitas tertinggi, sedangkan fraksi VII memiliki aktivitas terendah terhadap bakteri uji.



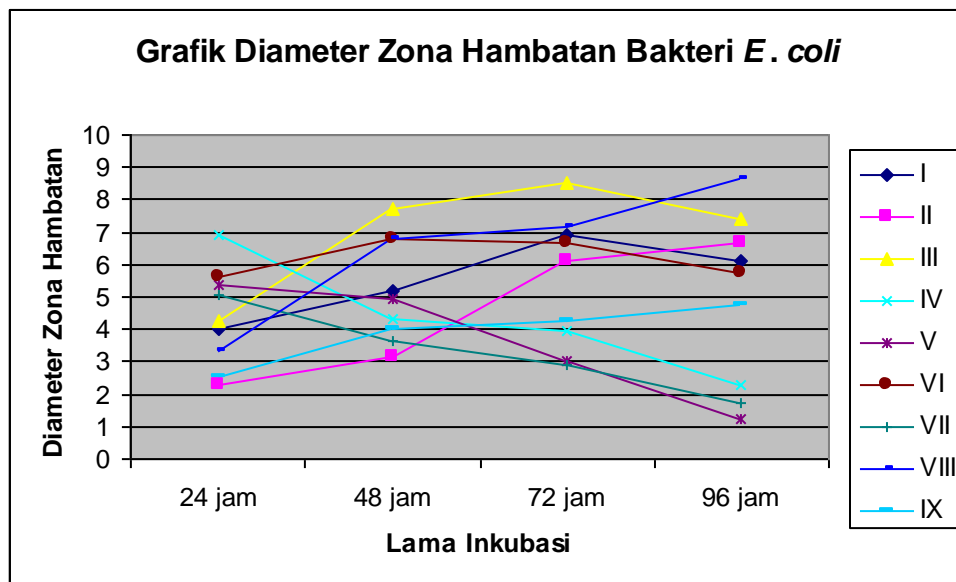
Gambar 3. Zona Hambatan Bakteri *E. coli* pada masa inkubasi: 24 jam (a), 48 jam (b), 72 jam (c), dan 96 jam (d) Terhadap Fraksi Ekstrak *A. ferruginea* dengan konsentrasi 50 µg / disk

Tabel 8. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri *E. coli* Terhadap Fraksi I – IX

Fraksi	Diameter Zona Hambatan (mm)			
	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
I	4,03 ± 0,23	5,21 ± 0,24	6,93 ± 0,58	6,09 ± 0,49
II	2,29 ± 0,17	3,12 ± 0,22	6,14 ± 0,48	6,69 ± 0,72
III	4,28 ± 0,11	7,7 ± 0,31	8,51 ± 0,26	7,4 ± 0,30
IV	6,92 ± 0,39	4,35 ± 0,28	3,94 ± 0,32	2,27 ± 0,19
V	5,35 ± 0,31	4,94 ± 0,22	3,05 ± 0,26	1,21 ± 0,17
VI	5,59 ± 0,15	6,77 ± 0,37	6,64 ± 0,34	5,72 ± 0,21
VII	5,04 ± 0,22	3,67 ± 0,20	2,89 ± 0,16	1,71 ± 0,21
VIII	3,35 ± 0,26	6,81 ± 0,62	7,19 ± 0,30	8,63 ± 0,35
IX	2,53 ± 0,23	4,03 ± 0,24	4,25 ± 0,39	4,78 ± 0,28

Keterangan :

- Rata-rata ± SD
- SD = Standar Deviasi
- Nilai sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram

**Gambar 4.** Grafik Diameter Zona Hambatan Bakteri *E. coli*

c. Uji sensitivitas bakteri *P. aeruginosa*

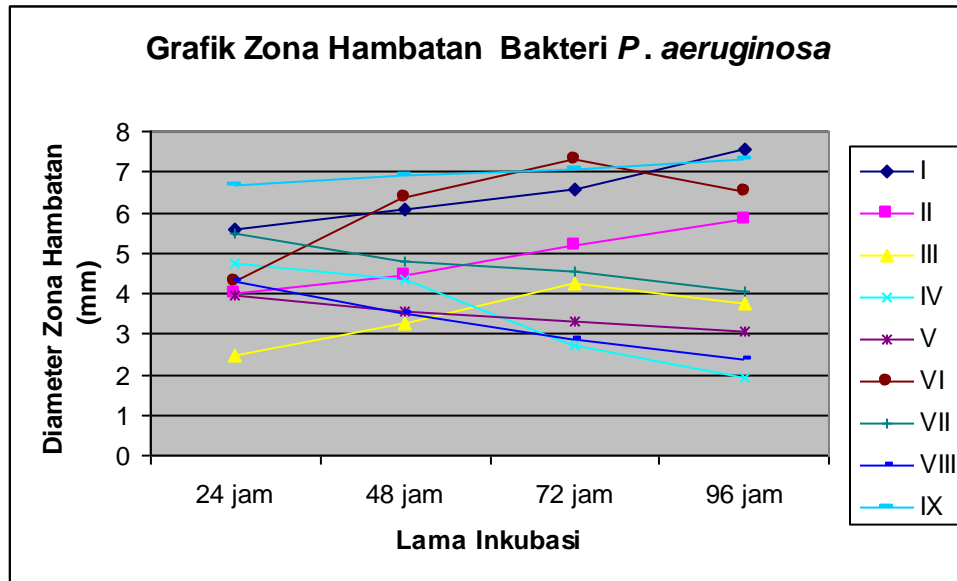
Pada uji sensitivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* terlihat bahwa bakteri uji mempunyai aktivitas antibakteri terhadap semua fraksi (Gambar 5.) Fraksi I, II, dan IX mengalami kenaikan diameter zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Fraksi III mengalami kenaikan diameter zona hambatan hingga 72 jam inkubasi tapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada 96 jam masa inkubasi. Sedangkan fraksi IV, VI, dan VII mengalami penurunan diameter zona hambatan dari awal masa inkubasi hingga akhir masa inkubasi selama 96 jam. Fraksi V mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam dan 48 jam akan tetapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 72 jam dan 96 jam. Sementara Fraksi VI mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam akan tetapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 96 jam. Fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi terhadap bakteri *P. aeruginosa* adalah fraksi IX, sedangkan fraksi VIII diketahui memiliki aktivitas paling rendah terhadap bakteri uji.

Tabel 9. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri *P. aeruginosa* Terhadap Fraksi I – IX

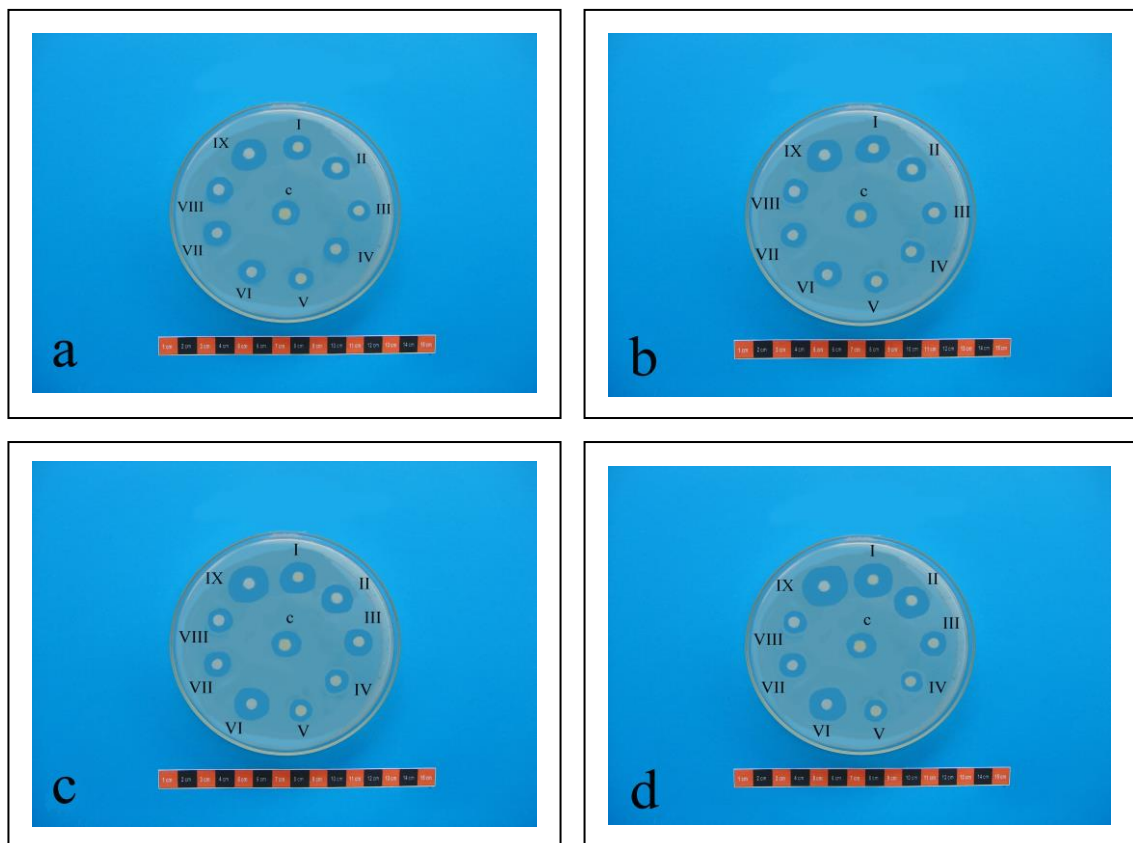
Fraksi	Diameter Zona Hambatan (mm)			
	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
I	5,57 ± 0,23	6,06 ± 0,08	6,59 ± 0,12	7,54 ± 0,45
II	4,01 ± 0,73	4,42 ± 0,09	5,17 ± 0,08	5,84 ± 0,12
III	2,49 ± 0,32	3,27 ± 0,10	4,25 ± 0,10	3,73 ± 0,13
IV	4,73 ± 0,15	4,36 ± 0,07	2,71 ± 0,13	1,95 ± 0,10
V	3,93 ± 0,06	3,57 ± 0,09	3,32 ± 0,11	3,06 ± 0,07
VI	4,28 ± 0,07	6,39 ± 0,08	7,32 ± 0,11	6,51 ± 0,12
VII	5,50 ± 0,15	4,81 ± 0,04	4,54 ± 0,07	4,07 ± 0,51
VIII	4,32 ± 0,13	3,51 ± 0,26	2,84 ± 0,07	2,39 ± 0,16
IX	6,68 ± 0,25	6,92 ± 0,06	7,07 ± 0,07	7,32 ± 0,10

Keterangan :

- Rata-rata ± SD
- SD = Standar Deviasi
- Nilai sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram



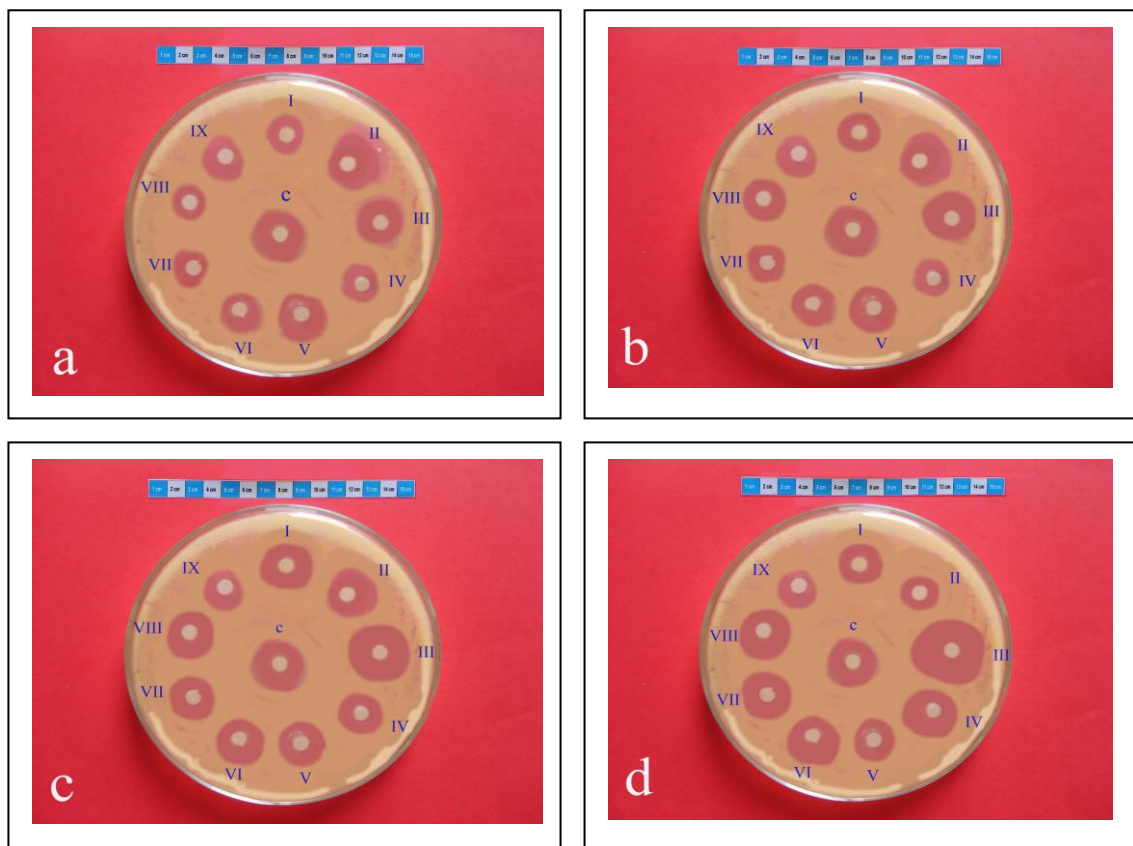
Gambar 5. Grafik Diameter Zona Hambatan Bakteri *P. aeruginosa*



Gambar 6. Zona Hambatan Bakteri *P. aeruginosa* pada masa inkubasi: 24 jam (a), 48 jam (b), 72 jam (c), dan 96 jam (d) Terhadap Fraksi Ekstrak *A. ferruginea* dengan konsentrasi 50 µg / disk

d. Uji sensitivitas terhadap bakteri *S. aureus*

Uji sensitivitas terhadap bakteri *S. aureus* memperlihatkan bahwa bakteri *S. aureus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap fraksi I – IX (Gambar 15.) Fraksi I mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam akan tetapi mengalami penurunan pada masa inkubasi 96 jam. Penurunan diameter zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi dialami oleh fraksi II, IV, dan V. Sedangkan Fraksi III, IV, VI, VII, dan VIII mengalami kenaikan diameter zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Fraksi III diketahui adalah fraksi yang memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri uji, sementara fraksi V adalah fraksi yang memiliki aktivitas terendah terhadap bakteri *S. aureus*.



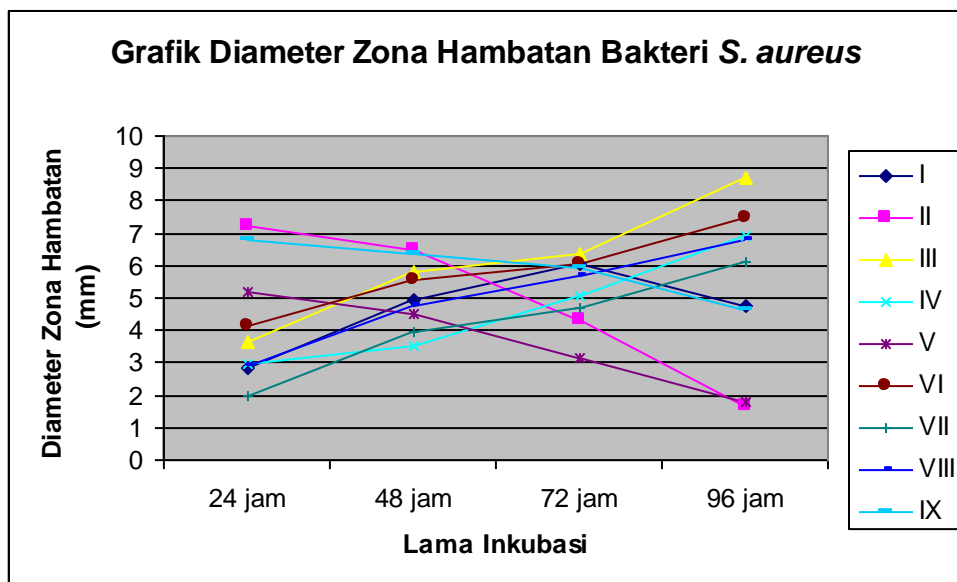
Gambar 7. Zona Hambatan Bakteri *S. aureus* pada masa inkubasi: 24 jam (a), 48 jam (b), 72 jam (c), dan 96 jam (d) Terhadap Fraksi Ekstrak *A. ferruginea* dengan konsentrasi 50 µg / disk

Tabel 10. Hasil Uji Sensitivitas Bakteri *S. aureus* Terhadap Fraksi I – IX

Fraksi	Diameter Zona Hambatan (mm)			
	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
I	2,86 ± 0,04	4,96 ± 0,70	6,03 ± 0,20	4,77 ± 0,66
II	7,21 ± 1,06	6,47 ± 0,20	4,31 ± 0,68	1,64 ± 0,15
III	3,62 ± 0,11	5,78 ± 0,16	6,38 ± 0,22	8,72 ± 0,09
IV	2,94 ± 0,16	3,51 ± 0,05	5,09 ± 0,65	6,90 ± 0,07
V	5,16 ± 0,62	4,53 ± 0,17	3,17 ± 0,11	1,82 ± 0,10
VI	4,11 ± 0,11	5,57 ± 0,07	6,02 ± 0,60	7,49 ± 0,33
VII	1,98 ± 0,07	3,94 ± 0,05	4,67 ± 0,23	6,14 ± 0,09
VIII	2,93 ± 0,04	4,78 ± 0,09	5,66 ± 0,19	6,80 ± 0,18
IX	6,77 ± 0,19	6,36 ± 0,22	5,91 ± 0,32	4,61 ± 0,07

Keterangan :

- Rata-rata ± SD
- SD = Standar Deviasi
- Nilai sudah dikurangi dengan diameter kertas cakram



Gambar 8. Grafik Diameter Zona Hambatan Terhadap Bakteri *S. aureus*

Pembahasan

Bivalve yang ditemukan di perairan Teluk Awur dan Bandengan terdiri dari 14 jenis yang terbagi kedalam 4 famili, yaitu Arcidae, Cardiidae, Tellinidae, dan Veneridae ditemukan di Perairan Teluk Awur, sedangkan di Perairan Bandengan ditemukan 5 famili, yaitu *Arcidae*, *Cardiidae*, *Macridae*, *Tellinidae*, dan *Veneridae*. Terdapat 2 jenis bivalve yaitu *Macoma bruguieri* dan *Tapes pinguis* yang diidentifikasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor. *A. ferruginea* ditemukan banyak disekitar area penelitian. Melimpahnya jenis bivalve ini pada lokasi Teluk Awur Jepara dapat diasumsikan karena jenis *A. ferruginea* paling adaptif terhadap lingkungan dan habitatnya yang mendukung kelangsungan hidupnya antara lain kondisi habitat dengan tipe substrat pasir berlumpur dan bahan organik relatif tinggi.

A. ferruginea dan hewan bivalve lainnya adalah organisme penyaring, *filter feeder*. *A. ferruginea* akan mengakumulasi makanan, kotoran, dan bahan cemaran lainnya. Kebiasaan makan *A. ferruginea* yang *filter feeder* menyebabkan *A. ferruginea* sangat berpotensi mengandung senyawa bioaktif.

Ekstraksi sampel

Proses ekstraksi dilakukan terhadap daging kerang *A. ferruginea* yang telah dipisahkan dari cangkangnya. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah n-hexane, etil asetat, dan metanol. Ketiga pelarut tersebut mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda. n-hexane bersifat non polar, Etil asetat bersifat semi polar, sedangkan Metanol bersifat polar. Pemilihan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda bertujuan supaya semua komponen yang ada dapat diambil, baik yang non polar, semi polar, maupun yang polar. Seperti halnya yang dikemukakan oleh Pavia *et al* (1995) bahwa ; Pelarut dapat melarutkan ekstrak yang mempunyai sifat kepolaran yang sama atau sesuai dengan pelarut, sehingga dengan pemakaian pelarut yang mempunyai sifat kepolaran berbeda bisa didapatkan ekstrak dengan berbagai tingkat kepolaran. Pada penelitian ini hasil ekstraksi dengan pelarut metanol merupakan ekstrak yang paling banyak dengan berat 21,22 gram. Ini menunjukkan bahwa sampel *A. ferruginea* lebih banyak mengandung senyawa polar.

Uji kualitatif aktivitas antibakteri bakteri uji terhadap ekstrak kerang *A. ferruginea*

Dugaan tentang Potensi ekstrak *A. ferruginea* sebagai senyawa antibakteri dibuktikan oleh adanya aktivitas antibakteri terhadap keempat bakteri uji. Pada uji kualitatif aktivitas antibakteri hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak kasar *A. ferruginea* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji yaitu : *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*. Ekstrak kasar yang ditetaskan pada paper disk ternyata mampu membentuk zona hambatan disekitar paper disk tersebut. Ekstrak *A. ferruginea* dengan pelarut etil asetat dan metanol aktif terhadap keempat bakteri uji, sedangkan ekstrak *A. ferruginea* dengan pelarut n-hexane hanya aktif terhadap bakteri *E. coli*, dan *P. aeruginosa*. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa non polar yang terdapat dalam ekstrak *A. ferruginea* tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, dan *P. aeruginosa* akan tetapi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. cereus*, dan *S. aureus*. Adanya aktivitas antibakteri dan antivirus pada *A. ferruginea* juga dikemukakan oleh Soediro (1993) yang menyatakan bahwa ; *A. ferruginea* dan berbagai jenis kerang lainnya mengandung senyawa Paolin I dan Paolin II yang bisa digunakan sebagai antibakteri maupun antivirus.

Uji penentuan eluen dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Berdasarkan hasil pengujian dengan KLT, pemisahan komponen yang terbaik dari ekstrak kasar *A. ferruginea* adalah dengan menggunakan eluen campuran etil asetat : metanol dengan perbandingan 10 : 1 yang membentuk sembilan noda (spot) seperti yang ditampilkan pada Tabel 8. Kemampuan eluen untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak ditunjukkan oleh banyaknya noda (spot) yang terbentuk. Eluen ini selanjutnya digunakan untuk pemisahan dengan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT). Senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar *A. ferruginea* mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda, hal ini dapat dilihat dari nilai Rf-nya yang juga bervariasi antara satu dengan yang lainnya. Sastrohamidjodjo (2001) menyatakan bahwa tiap senyawa memiliki Rf yang berbeda, sehingga perbedaan Rf antara dua *spot* pada KLT menunjukkan adanya senyawa yang berbeda. Senyawa yang memiliki nilai Rf

mendekati nol merupakan senyawa polar sedangkan senyawa yang memiliki nilai R_f mendekati satu merupakan senyawa non polar.

Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT)

Ekstrak kasar *A. ferruginea* difraksinasi dengan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT). Fraksinasi dilakukan dengan absorben Silica Gel, dan eluen yang digunakan adalah campuran etil asetat : metanol dengan perbandingan 10 : 1. Dari hasil KKT didapatkan 58 tampungan dengan volume masing-masing 20 mL, yang dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan KLT dan didapatkan sembilan fraksi. Berdasarkan hasil fraksinasi KKT dapat diketahui bahwa fraksi terbanyak dari sembilan fraksi yang ada adalah fraksi IX, dengan berat ekstrak 0.5238 gram, sedangkan fraksi yang paling sedikit adalah fraksi VI dengan berat ekstrak 0.0847 gram. Sebagai absorben, Silica Gel bersifat relatif ringan terhadap sebagian besar senyawa dan secara luas digunakan dalam pemisahan berbagai jenis kelompok fungsional hidrokarbon, alkohol, asam dan senyawa amin.

Uji Sensitivitas Antibakteri Bakteri Uji Terhadap Hasil Fraksinasi Kromatografi Kolom Terbuka.

Pada uji sensitivitas antibakteri hasil fraksinasi Kromatografi Kolom Terbuka terhadap bakteri uji dengan waktu inkubasi 4 x 24 jam menunjukkan bahwa ; diameter zona hambatan yang dibentuk oleh kesembilan fraksi mengalami peningkatan dan penurunan seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Menurut Wattimena *et al.*, (1991) zat antibakteri dikatakan bersifat bakteristatik bila menunjukkan penyempitan zona hambatan dan pengurangan kecerahan setelah inkubasi 24 jam, akan tetapi bila mampu membentuk zona hambatan yang tetap bening sampai waktu inkubasi 48 jam maka zat antibakteri itu disebut bakteriasidal.

Uji sensitivitas antibakteri *B. cereus*

Hasil uji terhadap bakteri *B. cereus* menunjukkan fraksi I, II, VI, dan IX mengalami penurunan zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Fraksi III, IV, dan VII mengalami kenaikan zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Sementara fraksi V dan VIII mengalami kenaikan zona hambatan mulai dari 24 jam masa inkubasi hingga 72 jam masa inkubasi akan tetapi mengalami penurunan pada masa inkubasi 96 jam. Hasil ini menunjukkan

bahwa fraksi III, IV, dan VII bersifat bakteriostatik karena mengalami penyempitan dan pengurangan diameter zona hambatan setelah diinkubasi selama 24 jam, sedangkan fraksi I, II, V, VI, VIII, dan IX bersifat bakteriasidal karena mampu membentuk zona hambatan yang tetap bening hingga 48 jam waktu inkubasi. Fraksi III mampu membentuk zona hambatan yang relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan antibiotik *Ceftizoxime sodium* dengan konsentrasi yang sama dengan fraksi III yaitu 50 µg / disk dengan rata-rata zona hambatan sebesar 8.44 mm setelah diinkubasi 4 x 24 jam.

a. Uji sensitivitas antibakteri bakteri *E. coli*

Hasil uji terhadap bakteri *E. coli* diketahui bahwa Fraksi I, II, III, VIII, dan IX mengalami kenaikan diameter zona hambat seiring bertambahnya masa inkubasi mulai dari 24 jam hingga 96 jam. Fraksi IV, V, dan VII mengalami penurunan diameter zona hambat seiring bertambahnya masa inkubasi. Sedangkan fraksi VI mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam hingga 48 jam akan tetapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 72 jam dan 96 jam. Fraksi I, II, III, VI, VII, VIII, dan IX mampu membentuk zona hambatan yang tetap bening sampai 48 jam masa inkubasi sehingga dikatakan sebagai bakteriasidal, sementara fraksi IV, dan V disebut bakteriostatik karena mengalami penyempitan dan pengurangan diameter zona hambatan setelah diinkubasi selama 24 jam. Fraksi III dan fraksi VIII mampu membentuk zona hambatan yang relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan antibiotik *Ceftizoxime sodium* dengan konsentrasi yang sama dengan fraksi III yaitu 50 µg / disk dengan rata-rata zona hambatan sebesar 7.40 mm dan 8.63 mm setelah diinkubasi 4 x 24 jam..

b. Uji sensitivitas antibakteri bakteri *P. aeruginosa*

Uji sensitivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* dapat dilihat bahwa fraksi IV, VI, dan VII bersifat bakteriostatik karena mengalami penyempitan dan pengurangan diameter zona hambatan setelah diinkubasi selama 24 jam, sementara fraksi I, II, III, V, VIII, dan IX bersifat bakteriasidal karena mampu membentuk zona hambatan yang tetap bening hingga 48 jam waktu inkubasi. Hal ini dapat dilihat pada; fraksi IV, VI, dan VII mengalami penurunan

diameter zona hambatan dari awal masa inkubasi hingga akhir masa inkubasi selama 96 jam. Fraksi I, II, dan IX mengalami kenaikan diameter zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Fraksi III mengalami kenaikan diameter zona hambatan hingga 72 jam inkubasi tapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada 96 jam masa inkubasi. Sementara Fraksi VI mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam akan tetapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 96 jam. Sedangkan fraksi V mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam dan 48 jam akan tetapi mengalami penurunan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 72 jam dan 96 jam. Fraksi IX mampu membentuk zona hambatan yang relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan antibiotik *Ceftizoxime sodium* dengan konsentrasi yang sama dengan fraksi IX yaitu 50 µg / disk dengan rata-rata zona hambatan sebesar 7.32 mm setelah diinkubasi 4 x 24 jam..

Uji sensitivitas antibakteri bakteri *S. aureus*

Pada pengamatan uji sensitivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* diketahui fraksi II, IV, dan V mengalami penurunan diameter zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Fraksi III, IV, VI, VII, dan VIII mengalami kenaikan diameter zona hambatan seiring bertambahnya masa inkubasi. Sedangkan fraksi I mengalami kenaikan diameter zona hambatan pada masa inkubasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam akan tetapi mengalami penurunan pada masa inkubasi 96 jam. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi I, III, VI, VII, VIII, dan IX bersifat bakteriasidal karena mampu membentuk zona hambatan yang tetap bening hingga 48 jam waktu inkubasi. Sementara fraksi II, IV, dan V bersifat bakteriostatik karena mengalami penyempitan dan pengurangan diameter zona hambatan setelah diinkubasi selama 24 jam masa inkubasi. Fraksi III mampu membentuk zona hambatan yang relatif lebih tinggi jika dibandingkan dengan antibiotik *Ceftizoxime sodium* dengan konsentrasi yang sama dengan fraksi III yaitu 50 µg / disk dengan rata-rata zona hambatan sebesar 8.72 mm setelah diinkubasi 4 x 24 jam.

Jika diamati, uji sensitivitas antibakteri kesembilan fraksi terhadap bakteri uji diketahui bahwa fraksi III adalah fraksi yang paling aktif terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus* masing-masing dengan rata-rata zona hambatan secara berurutan adalah 7,03 mm ; 6,97 mm ; 6,13 mm. Fraksi III juga lebih efektif menghambat ketiga bakteri tersebut dibandingkan antibiotik *Ceftizoxime sodium*. Sedangkan fraksi IX adalah fraksi yang paling aktif terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan rata-rata zona hambatan 7,00 mm. Hal ini berarti bahwa fraksi III mempunyai senyawa antibakteri yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S.aureus*. Sementara fraksi IX memiliki senyawa antibakteri yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*.

Adanya perbedaan kemampuan aktivitas antibakteri yang terdapat pada masing-masing fraksi mengindikasikan bahwa terdapat variasi kandungan senyawa pada kesembilan fraksi tersebut. Brocks dan Madigan (1991), menyatakan bahwa luas zona hambatan yang terbentuk disekitar *paper disk* dipengaruhi oleh sifat kimia dari senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme. Laju difusi molekul senyawa antibakteri didalam media agar, dipengaruhi oleh molekul dan aksinya terhadap agar. Zat dengan berta molekul yang lebih besar memilki laju difusi yang lebih besar dibandingkan dengan zat yang berat molekulnya lebih kecil, selain itu ada beberapa antibakteri yang laju difusinya akan terhambat dengan adanya media agar.

Setiap bakteri mempunyai kemampuan pertahanan diri yang berbeda-beda. Bakteri mengembangkan suatu mekanisme mempertahankan diri untuk menghadapi sesuatu yang dapat mengancam kelangsungan hidupnya. Salah satu ancaman tersebut adalah adanya perubahan kondisi lingkungan akibat kehadiran zat atau senyawa asing yang dapat mengganggu aktivitas sel bakteri. Untuk mengatasi hal tersebut bakteri akan berusaha untuk menetralsir senyawa asing tersebut. Ada beberapa bakteri yang mampu bertahan hidup dengan kemampuannya untuk menetralsir senyawa yang masuk, akan tetapi juga ada bateri yang tidak sanggup bertahan hidup dan akhirnya mati karena tidak mampu menetralsir senyawa asing tersebut (Conception, 1994). Beberapa faktor lainnya

yang mempengaruhi penghambatan mikroorganisme adalah konsentrasi bahan antimikrobia, suhu, lamanya bahan antimikrobia diaplikasikan pada mikroorganisme, kepekaan mikroorganisme terhadap bahan antimikrobia, serta kepadatan populasi mikroorganisme tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian penelusuran aktivitas antibakteri ekstrak kerang *A. ferruginea* disimpulkan bahwa : Ada 9 (sembilan) fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap keempat bakteri uji. Fraksi III adalah fraksi yang paling aktif terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *S. aureus*, dengan nilai rata-rata zona hambatan secara berurutan untuk ketiga bakteri diatas adalah sebesar 7,03 mm ; 6,97 mm ; dan 6,13 mm. Fraksi IX adalah fraksi yang paling aktif terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan rata-rata zona hambatan sebesar 7, 00 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Arikunto, S.M. 1993. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*. Edisi Revisi. Rineka Cipta. Jakarta. 378 hlm.
- Burgess, J.G., Boyd, K.G., Amstrong, E., Zhong Jiang, Liming Yan, Matz, B., May, U., Pisacane, T., Granmo, A. and Adam, D.R. 2003. *The Development of Marine Natural Product based Antifouling Paint. Biofouling*. Volume 19. Taylor & Francis Ltd.
- Brock, T.D. and Madigan, M.T. 1991. *Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall International Inc. London. 874 pp.
- Conception, G. P., G. B. Caraan and J. E. Lazaro. 1994. *Biological Assays for Screening of Marine Samples*. In : *Workbook Second Natural Products Workshop: Strategies in the Quest for Novel Bioactive Compounds from the Sea*. Marine Science Institute and Institute of Chemistry, University of Philippines. Deliman, Quezon City, Philippines.
- Lisdar, 1997).
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S. dan Engel, E.G. 1995. *Introduction to Organic Laboratory Techniques: A Contemporary Approach*. W.B. Saunders College Publishing, Philadelphia, USA, 525-613 pp.
- Ruppert, E.E., and R.D. Barnes., (1991), *Invertebrate Zooloy*, Saunders College Publishing, Toronto, p. 463-498.
- Soediro, I. S. 1998. *Produk Alam Hayati Bahari dan Prospek Pemanfaatannya di Bidang Kesehatan dan Kosmetika : Prosiding Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I*. LIPI, Jakarta. p. 41-52.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Kromatografi*. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Touchstone, J.C. dan Murrell F.D. 1983. *Practice of Thin Layer Chromatography*. Second Edition. John Wiley & Sons Inc., New York, 405 pp.
- Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Erlangga, Jakarta, hlm 447 – 539, (diterjemahkan oleh Soenartono Adisoemarto, Ph.D).
- Wattimena, J.R. Nelly, C., Sugiarto, Widiarto, M.A., Sukandar, E.Y., Soemardji, A.A., Setiadi, A.R. 1985. *Farmakodinamika dan Terapi Anti Biotik*. Gajahmada University Press, Yogyakarta, 168 hlm.