



EFEKTIVITAS SENYAWA ASAM HEKSADEKANOAT DAN β -SITOSTEROL ISOLAT DARI HYDROID *Aglaophenia cupressina* LAMOUREOUX SEBAGAI BAHAN ANTIMIKROBA PADA BAKTERI *Salmonella thypi* dan JAMUR *Aspergillus flavus*

THE EFFECTIVENESS OF HEXADECANOIC ACID COMPOUNDS AND β -CYTOSTEROL ISOLATE FROM HYDROID *Aglaophenia cupressina* LAMOUREOUX AS AN ANTIMICROBIAL AGENT IN *Salmonella thypi* BACTERIA and *Aspergillus flavus* FUNGI

Sjafaraenan, Eva Johannes, Mustika Tuwo

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin
Jl. P. Kemerdekaan KM.10, Tamalanrea, Makassar

Corresponding author : enan.gidinnur@gmail.com

Abstrak

Kasus cemaran mikroorganisme patogen pada bahan pangan yang dapat menimbulkan berbagai penyakit dan meningkatnya resistensi terhadap berbagai jenis antimikroba, maka diperlukan jenis antibiotik baru yang lebih efektif untuk mengatasi bakteri *Multi Drug Resistant* (MDR). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas senyawa bioaktif dari hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux dalam menghambat atau mematikan bakteri *S. almonlla thypi* dan jamur *Aspergillus flavus* yang sering mencemari bahan pangan. Metode penelitian yang digunakan adalah metode experimental, dengan tahapan perlakuan; Isolasi dan karakterisasi senyawa dari hydroid *A. cupressina* Lamoureaux dengan metode kromatografi, elusidasi struktur molekul isolat dengan UV,IR,NMR. Dua isolat yang diperoleh yaitu asam heksadekanoat dan β -sitosterol selanjutnya diuji terhadap *S. Thypi* dan *A. flavus* dengan konsentrasi senyawa (30 ppm dan 50 ppm). Hasil penelitian ditemukan bahwa senyawa asam heksadekanoat dengan konsentrasi (30ppm dan 50 ppm) bersifat bakterisida terhadap *S. Thypi* dan bersifat fungistatik terhadap *A. flavus* pada konsentrasi (30 ppm dan 50 ppm). β -sitosterol dengan konsentrasi (30 ppm dan 50ppm) bersifat bakteriostatik terhadap *S. thypi*, dan bersifat fungistatik terhadap jamur *A. flavus*.

Kata kunci : Asam Heksadekanoat, β -sitosterol, Hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux, Antimikroba, *Salmonella thypi*, *Aspergillus flavus*

Abstract

Cases of contamination of pathogenic microorganisms in foodstuffs that can cause various diseases and increase resistance to various types of antimicrobials, then a new type of antibiotic is needed that is more effective in dealing with Multi Drug Resistant

(MDR) bacteria. This study aims to determine the effectiveness of bioactive compounds from hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux in inhibiting or killing the bacteria *S. almonlla thypi* and *Aspergillus flavus* fungus which often contaminate food. The research method used is experimental method, with treatment stages; Isolation and characterization of compounds from hydroid *A. cupressina* Lamoureaux by chromatography method, molecular structure elucidation of isolates with UV, IR, NMR. Two isolates obtained, namely hexadecanoic acid and β -sitosterol were then tested against *S. Thypi* and *A. flavus* with compound concentrations (30 ppm and 50 ppm). The results showed that hexadecanoic acid compounds with concentrations (30ppm and 50 ppm) were bactericidal against *S. Thypi* and fungistatic against *A. flavus* at concentrations (30 ppm and 50 ppm). β -sitosterol with concentrations (30 ppm and 50ppm) is bacteriostatic against *S. thypi*, and fungistatic against *A. flavus* fungi.

Kata kunci : Hexadecanoic Acid, β -sitosterol, Hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux, Antimicrobials, *Salmonella thypi*, *Aspergillus flavus*

Pendahuluan

Resistensi terhadap berbagai jenis obat adalah masalah utama dalam pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen. Menurut C. Lee Ventola (2015), untuk melawan bakteri patogen yang sudah bersifat resisten diperlukan antimikroba baru yang efektif, maka penelitian sumber antibiotik baru yang lebih efektif dalam mengatasi bakteri dan jamur patogen yang telah resisten terhadap antibiotik harus dilakukan untuk mengatasi bakteri *Multi Drug Resistant* (MDR).

Tingginya kasus infeksi yang disebabkan tercemarnya bahan makanan oleh mikroba patogen menyebabkan penggunaan obat-obatan antibiotik juga terus meningkat (Vangelis Economou and Panagiota Gousia, 2015) Hal ini menjadi fokus penting dari penelitian senyawa bioaktif baru yang menurut Richard J Fair and Yitzhak Tor (2014), pengembangan obat baru yang berasal dari biota laut, saat ini menjadi perhatian para peneliti dikarenakan tingginya keanekaragaman hayati laut serta keunikan struktur metabolit sekunder yang dihasilkannya

Joana *et al*, (2011), menyatakan hal tersebut dapat dilakukan dengan mengisolasi senyawa bioaktif dari bahan alam laut, yang sifatnya aman bagi kesehatan tetapi juga mampu menginaktifkan bakteri dan jamur yang mencemari bahan makanan. Senyawa bahan hayati laut tersebut sebagian besar terakumulasi pada kelompok invertebrata laut seperti sponge, tunikata, karang lunak dan moluska, dan Cnidaria (Miguel Costa Leal *et al*, 2012).

Hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux adalah hewan invertebrata dari filum cnidaria, yang hidup melekat pada spons, selain mengandung senyawa kimia alkaloid, diterpen, tridentatol A, dan prostaglandin, juga diketahui mengandung histamine, liberator histamine dan protein pada nematocystnya (Anil Bisht *et al*, 2018). Suada dan Ni Wayan Suniti (2011) juga membuktikan bahwa ekstrak kasar *Aglaophenia sp* (0,05%) mampu menekan pertumbuhan *Fusarium oxysporumf.sp. vanillae*. Diduga masih banyak senyawa bioaktif lainnya dari metabolit sekunder hydroid *A. cupressina* L. yang dapat dimanfaatkan dalam industri kimia dan obat-obatan..

Saleh Mohammed Jajere(2019) melaporkan, *Salmonella sp* dapat tumbuh dan memproduksi enterotoksin yang dapat menyebabkan penyakit Salmonellosis, dengan jumlah bakteri 10^5 - 10^{10} . Salmonellosis timbul 8-72 jam setelah mengonsumsi makanan yang terkontaminasi. Sedangkan *A. flavus* adalah jamur yang menghasilkan racun aflatoksin terutama pada golongan kacang-kacangan dan merupakan salah satu penyebab kanker hati (Kevin Hargen, 2018)

Bagaimana mekanisme dan besarnya daya hambat senyawa-senyawa tersebut terhadap bakteri patogen *Salmonella thypi* dan jamur *Aspergillus flavus* perlu diteliti lebih lanjut, untuk menguji efektivitas senyawa-senyawa tersebut. Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi senyawa-senyawa tersebut dari hydroid *A. cupressina* Lamoureux, kemudian dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *S. Thypi* dan *A. flavus* apakah dapat menghambat atau mematikan bakteri tersebut, sehingga dapat digunakan sebagai salah satu sumber antimikroba alami.

Metodologi Penelitian

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar dan Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar. Penelitian ini dilakukan selama 5 bulan pada Tahun 2020 dengan kegiatan yaitu penyiapan: Hydroid *Aglaophenia* Lamoureux; biakan Bakteri *Salmonella thypi*, biakan jamur *Aspergillus*, medium tumbuh bakteri dan jamur..

Prosedur Kerja

Ekstraksi, Partisi dan Isolasi

Sampel yang telah dikeringkan dihaluskan kemudian dimaserasi dengan metanol selama 1 X 24 jam pada suhu kamar. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan rotapapor hingga diperoleh maserat kental, selanjutnya dipartisi cair-cair dengan menggunakan pelarut n-heksan. Hasil ekstrak kental n-heksan dianalisis dengan kromatografi lapis tipis.

Hasil partisi difraksinasi menggunakan kolom kromatografi vakum menjadi beberapa fraksi kemudian dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT), selanjutnya dikromatograf kolom flash/tekan menggunakan eluen yang sesuai. Proses ini dilakukan berulang ulang hingga diperoleh isolat murni.

Eludasi Struktur

Eludasi struktur senyawa dengan metode spektroskopi, meliputi data spectra UV dan IR dan NMR.

Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Agar

Medium Muller Hinton Agar (MHA) steril dituang secara aseptis kedalam cawan petri sebanyak 20 ml dan dibiarkan menjadi padat sebagai lapisan dasar. Setelah itu dimasukkan suspensi bakteri uji masing masing 1 ml ke dalam 10 ml medium diatas lapisan dasar dan dibiarkan setengah padat sebagai lapisan pembedahan. 6 buah pencadangan dengan diameter 5 mm, diameter luar 8 mm, tinggi 10

mm diletakkan secara aseptis dengan pinset steril pada permukaan medium dengan jarak pencadang satu dengan yang lain 2-3 cm dari pinggiran cawan petri, disimpan pada suhu kamar.

Masing-masing pencadang diisi dengan 0,25 ml asam heksadekanat dan β -sitosterol, hasil isolate dari hydroid *A. cupressina* Lamoureaux pada konsentrasi 30 ppm, dan 50 ppm. Demikian pula larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif, masing-masing 0,25 ml selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam.

Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling pencadang dengan menggunakan jangka sorong, untuk melihat kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil pengukuran daya hambat pada 24 jam dan 48 jam ditabulasi dan dianalisis.

Uji Aktivitas Antijamur Dengan Metode Difusi Agar

Medium Sabouraud Dekstrose Agar (SDA) steril didinginkan pada suhu 40^o-45^oC, kemudian dituang secara aseptis kedalam cawan petri sebanyak 20 ml dan dibiarkan menjadi padat sebagai lapisan dasar. setelah itu dimasukkan suspensi bakteri uji masing masing 1 ml ke dalam 10 ml medium diatas lapisan dasar dan dibiarkan setengah padat sebagai lapisan pembenihan. 6 buah pencadang dengan diameter 5 mm, diameter luar 8 mm, tinggi 10 mm diletakkan secara aseptis dengan pinset steril pada permukaan medium dengan jarak pencadang satu dengan yang lain 2-3 cm dari pinggiran cawan petri, disimpan pada suhu kamar.

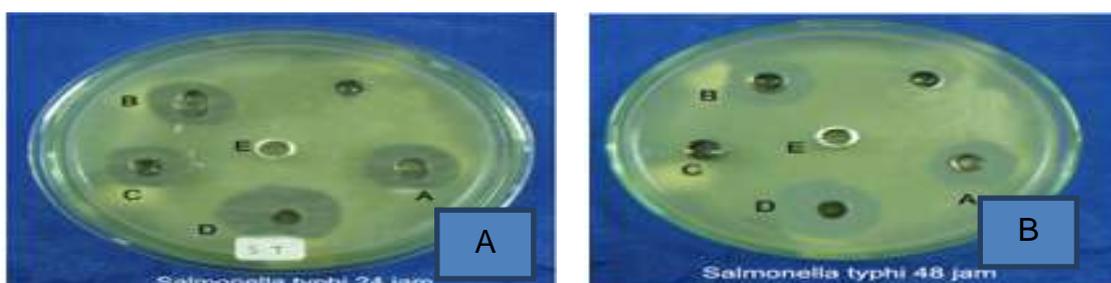
Masing-masing pencadang diisi dengan 0,25 ml asam heksadekanat dan β -sitosterol, hasil isolate dari hydroid *A. cupressina* Lamoureaux pada konsentrasi 30 ppm, dan 50 ppm. Demikian pula larutan ketokonazol sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif, masing-masing 0,25 ml selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dan 72 jam.

Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter hambatan pertumbuhan jamur disekeliling pencadang dengan menggunakan jangka sorong, untuk melihat kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan jamur uji. Hasil pengukuran daya hambat pada 48jam dan 72 jam ditabulasi dan dianalisis.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

Hasil uji daya hambat isolat Hydroid *Aglaophenia cupressina* L terhadap bakteri *Salmonella typhi* diperoleh hasil seperti terlihat pada gambar 1(A dan B)

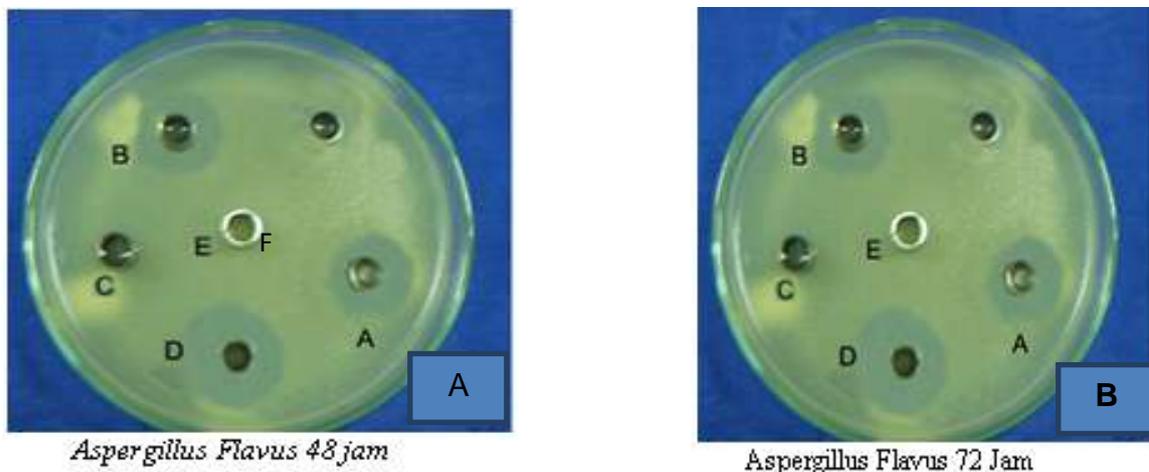


Gambar 1. Zona daya hambat senyawa Heksadekanat dan B-sitosterol pada *S.typhi*

Senyawa	Zona hambat
A = β -sitosterol 30ppm	17,00 mm
B = β -sitosterol 50ppm	17,00 mm
C = as. Heksadekanoat 30ppm	12,00 mm
D = as. Heksadekanoat 0ppm	18,00 mm
E = Control (+)	17,00 mm
F=Control (-)	0 mm

senyawa	Zona hambat
A = β -sitosterol 30ppm	16,50 mm
B = β -sitosterol 50ppm	17,00 mm
C = As. Heksadekanoat 30ppm	16,00 mm
D = As, heksadekanoat 50ppm	19,00 mm
E = Control (+) kloramfenikol	18,25 mm
F=Control (-) DMSO	0 00 mm

Untuk hasil uji Zona daya hambat isolat Hydroid *Aglaophenia cupressina* L terhadap bakteri Jamur *Aspergillus* diperoleh hasil seperti terlihat pada gambar 2 (A dan B)



Gambar 2. Zona daya Hambat senyawa pada *Aspergillus*

Senyawa	Zona hambat
A = β -sitosterol 30ppm	11.50 mm
B = β -sitosterol 50ppm	11.0 0 mm
C = Hecsaecanoat acid 30 ppm	12.00 mm
D = Hecsaecanoat acid 50ppm	11.50 mm
E = Control (+) Ketokonazol	0,00 mm
F= Control (-) DMSO	0,00 mm

Senyawa	Zona hambat
A = β -sitosterol 30ppm	11,00 mm
B = β -sitosterol 50ppm	11,00 mm
C = as. Heksadekanoat 30ppm	11,50 mm
D = as. Heksadekanoat 50ppm	11,50 mm
E = Control (+) ketokenazol	0,00.mm
F=Control (-) DMSO	0,00 mm

Pembahasan

Uji Antibakteri senyawa Asam Heksadekanoat dan senyawa β -sitosterol terhadap bakteri *Salmonella thypi*

Asam heksadekanoat dengan konsentrasi 30 ppm terhadap *S. thypi* pada selang waktu 24 jam diameter zona hambat 12 mm mengalami perubahan pada selang waktu 48 jam dengan diameter zona hambat menjadi 16,00 mm. Demikian juga dengan konsentrasi 50 ppm, terlihat senyawa asam heksadekanoat bersifat

bakteriosida karena selang waktu 48 jam diameter zona hambat mengalami perubahan menjadi 19,00 mm..(Gambar 1A dan 1B).

β -sitosterol dengan konsentrasi 30 ppm, diameter zona hambat yang terbentuk pada selang waktu 24 jam adalah 17,00 mm menjadi 16,50 mm pada selang waktu 48 jam, dan β -sitosterol dengan konsentrasi 50 ppm juga bersifat bakteriostatik dengan zona hambat yang terbentuk pada 48 jam tidak mengalami perubahan yaitu 17,00 mm. Linlin Wang *et al* (2017), menyatakan bahwa pengaruh komponen antibakteri terhadap sel bakteri dapat menyebabkan kerusakan sel yang berlanjut pada kematian. Kerusakan sel yang ditimbulkan komponen antibakteri dapat bersifat mikrosidal (kerusakan bersifat tetap) atau mikrostatik (kerusakan yang dapat pulih kembali). Suatu komponen akan bersifat mikrosidal atau mikrostatik tergantung pada konsentrasinya komponen dan kultur mikroba yang digunakan (Julio Cesar Lopez-Romero *et al*, 2015). Menurut. Yonghong Meng *et al*, (2011) reaksi esterifikasi antara Asam Heksadekanoat dengan gugus hidroksil dari lipopolisakarida penyusun dinding sel bakteri mengakibatkan perubahan struktur membran lipopolisakarida menjadi tidak simetris. Hal ini mengganggu keseimbangan dari struktur lipid membran sehingga keutuhan membran sel bakteri terganggu, dan dapat menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah.

Uji Antijamur senyawa Asama Hksadekanoat dan senyawa β -sitosterol terhadap jamur *Aspergillus flavus*

Asam heksadekanoat dengan konsentrasi 30 ppm dan terhadap *A. Flavus* pada selang waktu 48 jam diameter zona hambat 12,00 mm mengalami penurunan pada selang waktu 72 jam dengan diameter zona hambat menjadi 11,50 mm, demikian juga dengan asam heksadekanoat pada konsentrasi 50 ppm, terlihat senyawa asam heksadekanoat bersifat fungistatik karena zona hambat pada selang waktu 48 jam 11,50 mm tidak mengalami perubahan pada selang waktu 72 jam (Gambar 2 A dan B).

β -sitosterol dengan konsentrasi 30 ppm, diameter zona hambat yang terbentuk pada selang waktu 48 jam adalah 11,50 mm menjadi 11,00 mm pada selang waktu 72 jam, dan β -sitosterol dengan konsentrasi 50 ppm juga bersifat fungistatik dengan zona hambat yang terbentuk pada 48 jam 11,00 mm dan pada selang waktu 72 jam tidak mengalami perubahan. Sougata Jana and Subrata Jana (2020), apabila daerah hambatan yang terbentuk tidak lagi bening setelah masa inkubasi 48 jam berarti zat kimia yang bersifat antimikroba yang terkandung dalam suatu bahan bersifat fungistatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan atau tidak membunuh jamur tersebut. Menurut Federico Lopez-Moya *et al* (2019) reaksi kitin sebagai gugus aktif dari dinding sel jamur dengan sisi aktif dari Asam Heksadekanoat membentuk suatu senyawa kompleks. Reaksi tersebut tidak merusak struktur utama dari kitin, dan hanya bereaksi dengan struktur yang berada di luar cincin ($\text{CH}_2\text{-OH}$), menyebabkan reaksi antara kitin dan gugus aktif Asam Heksadekanoat kurang memengaruhi keutuhan dinding sel jamur karena tidak merusak struktur tulang punggung dari kitin.

Kesimpulan

Penelitian ini menyimpulkan bahwa : Asam heksadekanoat dari golongan asam karboksilat memiliki sifat bakteriosida terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan bersifat fungistatik terhadap jamur *Aspergillus flavus*. β -sitosterol dari golongan steroid memiliki sifat bakteriostatik terhadap bakteri *Salmonella thypi* dan fungistatik terhadap jamur *Aspergillus flavus*.

Daftar Pustaka

- Anil Bisht, Mujeeb-Ur-Rehman , Sushil Bhadula. 2018. Zooplankton Diversity and their Relationship with Physico-Chemical Parameters of Song River, Dehradun. Life Science Journal.
- C. Lee Ventola .2015. The Antibiotic Resistance Crisis. Journal Pharmacy and Therapeutic. 40(4): 277–283..
- Federico Lopez-Moya, Marta Suarez-Fernandez, Luis Vicente Lopez-Llorca. 2019. Molecular Mechanisms of Chitosan Interactions with Fungi and Plants. Int J Mol Sci.; 20(2): 332.
- Joana ; Luisa Peixe ; Newton C.M. Gomes ; Ricardo Calado .2011 . *J. Marine Drugs* 9, 10, 1860-1886. (www.mdpi.com/journal/marinedrugsReview.. *Marine Drugs*.ISSN 1660-3397).
- Julio Cesar Lopez-Romero, Humberto González-Ríos, Anabela Borges, Manuel Simões . 2015. Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. J. Evid Based Complement Alternat Med. : 795435.
- Linlin Wang, Chen Hu, Longquan Shao. 2017. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. Int J Nanomedicine.: 1227–1249.
- Miguel Costa Leal, Carolina Madeira, Cláudio Alexandre Brandão, João Puga, Ricardo Calado. 2012. Bioprospecting of Marine Invertebrates for New Natural Products — A Chemical and Zoogeographical Perspective. J. Molecules. ; 17(8): 9842–9854.
- Richard J Fair and Yitzhak Tor. 2014. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. J, Perspect Medicin Chem; 6: 25–64.
- Saleh Mohammed Jajere. 2019. A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. J. Veterinary World. ; 12(4): 504–521.
- Sougata Jana and Subrata Jana. 2020. Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems. J. Nature Public Health Emergency Collection 6 : 457–489.
- Vangelis Economou and Panagiota Gousia. 2015. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. J. Infect Drug Resist. ; 8: 49–61.

Kevin Hargen. 2018. What salmonella is and how to reduce the risk of food poisoning. Food Standars Agency..

Yonghong Meng, Guili Wang, Na Yang, Zhiqi Zhou, Yuejuan Li, Xiaomei Liang, Jinnan Chen, Ying Li , Jilun Li. 2011. Two-step synthesis of fatty acid ethyl ester from soybean oil catalyzed by *Yarrowia lipolytica* lipase. *Biotechnology for Biofuels* volume 4, Article number: 6