

EVALUASI PIGMEN KAROTENOID KARANG LUNAK *SARCOPHYTON* SP. SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERI POTENSIAL MASA DEPAN

Ria Etikasari^{1,a}, Rika Murharyanti^{1,b}, Awang Surya Wiguna^{1,c}

¹STIKES Muhammadiyah Kudus

Jurusan S-1 Farmasi

Jl. Ganesha I Purwosari, Kudus, Indonesia

^ariaetikasari@stikesmuhkudus.ac.id

^brikamurharyanti@stikesmuhkudus.ac.id

^cawangsw@stikesmuhkudus.ac.id

Abstrak

Penyakit infeksi dapat diobati dengan menggunakan antibiotik. Sumber penghasil antibiotik bisa berasal dari mikroba laut. Karang lunak *Sarcophyton* sp., dilaporkan memiliki kandungan senyawa bioaktif alkaloid, steroid, dan flavonoid. Pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang lunak merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang lunak *Sarcophyton* sp. terhadap pertumbuhan bakteri patogen serta mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri pigmen karotenoid pada konsentrasi 0,5 %, 0,75 %, dan 1 % dengan metode sumuran. Sampel yang digunakan adalah ekstrak metanol pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang lunak *Sarcophyton* sp. Teknik sampling yang digunakan adalah purposif dengan kriteria karang lunak *Sarcophyton* sp., berwarna kuning. Pengambilan sampel karang lunak *Sarcophyton* sp., dari perairan Pulau Cemara Besar, Karimunjawa dengan teknik *snorkeling* pada kedalaman 2 meter. Pigmen karotenoid yang berfungsi sebagai antibakteri diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol hingga seluruh sel bakteri berwarna pucat. Karotenoid yang diproduksi bakteri simbiosis tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan rata – rata diameter zona hambat pada konsentrasi 0,5 % sebesar 0,678 cm, konsentrasi 0,75 % sebesar 0,978 cm, konsentrasi 1 % sebesar 1,416 cm serta diameter zona hambat kontrol positif amoksisilin trihidrat sebesar 1,875 cm.

Kata Kunci: *Sarcophyton* sp., karotenoid, antibakteri, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Infectious diseases can be treated using antibiotics. Source of antibiotic producer can come from marine microbe. Soft coral *Sarcophyton* sp., is reported to have bioactive compound alkaloids, steroids, and flavonoids. Carotenoid pigments of soft coral symbiont bacteria are potentially antibacterial compounds. This study aims to evaluate antibacterial activity of carotenoid pigment from soft coral symbiont *Sarcophyton* sp., to growth of pathogenic bacteria and to know difference antibacterial activity of carotenoid pigment at concentration 0,5%, 0,75%, and 1% with sink method. Sample used were carotenoid pigment of methanol extract from soft coral symbiont bacteria *Sarcophyton* sp. Purposive sampling technique with soft coral criteria *Sarcophyton* sp., colored yellow. Sampling soft coral *Sarcophyton* sp., from waters of Pulau Cemara Besar, Karimunjawa with *snorkeling* at depth 2 meters. Carotenoid pigment acting as antibacterial extracted by maceration method using methanol solvent until all bacterial cells are pale. Carotenoids produced by symbiont bacteria have antibacterial activity against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with diameter average inhibitory zone at 0.5% concentration 0.678 cm, 0.75% concentration 0.978 cm, 1% concentration 1.416 cm and diameter inhibitory zone positive control amoxicillin trihydrate at 1.875 cm.

Keywords: *Sarcophyton* sp., carotenoid, antibacterial, *Staphylococcus aureus*

I. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi dapat diobati dengan menggunakan antibiotik. Sumber penghasil antibiotik bisa berasal dari mikroba laut. Menurut Faulkner, (2008) mikroba penghasil

antibiotik dapat berupa fungi maupun bakteri yang biasanya bersimbiosis pada organisme lain.

Terumbu karang merupakan ekosistem di perairan tropis yang kaya akan biota-biota penyusunnya, dengan keanekaragaman jenis

yang tinggi. Salah satu biota penyusun terumbu karang adalah karang lunak. *Sarcophyton* sp. merupakan salah satu jenis karang lunak yang memproduksi senyawa kimia alami yang berpotensi sebagai sumber obat alami. Karang lunak menghasilkan beberapa dari golongan senyawa hasil metabolit sekunder, antara lain alkaloid, steroid, flavonoid, fenol, saponin, dan peptida. Karang lunak *Sarcophyton* sp. dilaporkan memiliki kandungan senyawa bioaktif alkaloid, steroid, dan flavonoid (Hardiningtyas, 2009).

Hasil penelitian yang dilakukan Sawant dkk. (2006) bahwa senyawa terpenoid yang terdapat pada karang lunak *Sarcophyton* sp. memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, antitumor, neurotoksik, dan anti-inflamatori. Penelitian yang dilakukan oleh Radjasa dkk., (2009), disebutkan bahwa pigmen karotenoid dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Halimeda* sp. memiliki senyawa antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini akan mengevaluasi pigmen karotenoid dari karang lunak *Sarcophyton* sp. yang dapat berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

II. LANDASAN TEORI

Menurut Hardiningtyas (2009) taksonomi karang lunak *Sarcophyton* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Coelenterata
Kelas	: Anthozoa
Sub-kelas	: Octocorallia (Alcyonaria)
Ordo	: Alcyonaceae
Familia	: Alcyoniidae
Genus	: <i>Sarcophyton</i>
Spesies	: <i>Sarcophyton</i> sp.

Sarcophyton sp. adalah karang lunak sub-kelas Alcyonaria yang memiliki tangkai dan ukuran koloni yang besar. Koloni karang ini mampu mencapai ukuran 1,5 m, namun pada umumnya berukuran 10-20 cm (Fabricius, 1995).

Terumbu karang termasuk karang lunak *Sarcophyton* sp. tumbuh dan berkembang optimal pada perairan bersuhu rata-rata tahunan 23 – 25 °C tetapi dapat mentoleransi suhu sebesar 36 – 40 °C dan salinitas sebesar 32 – 35 ‰. Habitatnya harus berada pada

rataan terumbu karang yang mendapatkan sinar matahari sehingga *zooxanthellae* yang hidup di dalam jaringan karangnya mampu melakukan fotosintesis. Gelombang laut memberikan pasokan oksigen terlarut, plankton, dan membantu menghalangi terjadinya pengendapan pada koloni atau polip karang, namun gelombang yang besar dapat merusak struktur karang lunak (Nybakken, 1982).

Menurut Hardiningtyas (2009) karang lunak menghasilkan senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk menghadapi serangan predator, media kompetisi, mencegah infeksi bakteri, membantu proses reproduksi, dan mencegah sengatan sinar ultraviolet. Karang lunak menghasilkan beberapa dari golongan senyawa hasil metabolit sekunder, antara lain alkaloid, steroid, flavonoid, fenol, saponin, dan peptida. Karang lunak *Sarcophyton* sp. dilaporkan memiliki kandungan senyawa bioaktif alkaloid, steroid, dan flavonoid (Hardiningtyas, 2009).

Menurut Tursch dkk., (1978), bahan bioaktif yang terdapat pada *Sarcophyton* sp. adalah sarcophine, sedangkan Chau Van Minh dkk., (2010) menyatakan bahwa pigmen karotenoid terdapat dalam karang lunak *Sarcophyton elegans*.

Karotenoid adalah suatu kelompok pigmen yang berwarna kuning, orange, atau merah orange, yang ditemukan pada tumbuhan, kulit, cangkang atau kerangka luar hewan air serta hasil laut lainnya seperti *mollusca*, *crustacea* dan ikan salmon. Karotenoid juga banyak ditemukan pada kelompok bakteri, jamur, ganggang dan tanaman hijau (Desiana, 2000). Pada tanaman hijau, karotenoid terdapat dalam kloroplas (0,5 %) bersama – sama dengan klorofil (9,3 %), terutama pada bagian permukaan atas daun. Pada dedaunan hijau, selain klorofil terdapat juga karotenoid. Karotenoid dijumpai dalam buah papaya, kulit pisang, tomat, mangga, wortel, dan pada beberapa bunga yang berwarna merah dan kuning. Diperkirakan lebih dari 100 juta ton karotenoid diproduksi setiap tahun di alam. Beberapa jenis karotenoid di alam adalah β -karoten, likopen, dan biksin (Winarno, 2002).

Karotenoid merupakan senyawa yang memiliki rumus kimia sesuai atau mirip dengan karoten. Terdapat 2 jenis karotenoid yaitu :

1. Karoten, merupakan hidrokarbon atau turunannya yang terdiri dari beberapa unit isoprena. Beberapa senyawa karotenoid yaitu α , β , γ – karoten, dan likopen.
2. Xantofil, merupakan karotenoid yang mengandung gugus hidroksil. Xantofil umum biasanya berupa monohidroksikarotena seperti rubixantin, dihidroksikarotena seperti zeaxantin, atau dihidroksiepsikarotena seperti violaxantin.

Karoten dan xantofil, kedua jenis karotenoid ini umumnya mengandung 40 karbon aktif yang terdiri atas 8 unit isoprena. Keduanya tidak larut dalam air, tetapi larut dalam alkohol, eter minyak bumi, aseton, dan banyak pelarut organik lainnya. Lebih dari 400 karoten yang berbeda telah ditemukan di alam. β -karoten merupakan karotenoid yang banyak dijumpai pada tumbuhan tingkat tinggi dan menyebabkan akar wortel berwarna jingga (Salisbury & Ross, 1995). Pemeriksaan daya antibakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain :

A. Uji Pengenceran (*Disolution test*)

Prinsip dari metode ini yaitu menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji, kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara seri dan diamati kekeruhan pada tabung. Cara ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum dari obat antibakteri. Metode dilusi ada dua jenis, yaitu:

- 1) Metode dilusi cair atau *broth dilution test*

Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji

ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, di inkubasi 18-24 jam. Media cair yang tetap jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

- 2) Metode dilusi padat, *solid dilution test*

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

B. Uji Difusi

Prinsip dari metode ini adalah larutan sampel yang diduga mempunyai daya antibakteri dimasukkan pada permukaan agar yang telah ditanam bakteri tertentu secara merata kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Selama inkubasi, larutan sampel akan terdifusi ke dalam pembenihan. Bila sampel mempunyai daya antibakteri maka akan terlihat daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Daya antibakteri dapat dilihat dari besarnya diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi. Beberapa modifikasi dari metode ini sebagai berikut :

- 1) Metode *E-Test*

Digunakan untuk mengestimasi KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media (Pratiwi, 2008).

- 2) Metode Ditch-plate technique

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada

parit yang dibuat dengan cara memotong media dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

3) Metode Cup-plate technique

Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

4) Metode Gradient-plate technique

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin dibandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan (Pratiwi, 2008).

III. METODE PENELITIAN

Objek penelitian yang diteliti adalah zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak metanol pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang lunak *Sarcophyton* sp. terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Sampel yang digunakan adalah ekstrak metanol pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang lunak *Sarcophyton* sp. Teknik sampling yang digunakan adalah purposif dengan kriteria karang lunak *Sarcophyton* sp. berwarna kuning yang diambil pada kedalaman 2 meter.

Pengambilan sampel karang lunak *Sarcophyton* sp. dilakukan di perairan Pulau Cemara Besar, Karimunjawa dengan teknik

snorkeling pada kedalaman 2 meter. Sampel disimpan dalam *cool box* agar tetap segar dan tidak rusak.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak metanol pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang lunak *Sarcophyton* sp. dibuat dalam konsentrasi 0,5 %, 0,75 %, dan 1 %.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak metanol pigmen karotenoid dari bakteri karang lunak *Sarcophyton* sp. terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berupa zona bening.

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah jenis bakteri yang digunakan dari kultur murni *Staphylococcus aureus*, jenis dan jumlah media yang digunakan, suhu dan waktu inkubasi yaitu 37 °C selama 18-24 jam, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong, jumlah kontrol positif dan kontrol negatif yang ditanam, jumlah bakteri yang ditanam, dan volume sampel.

Identifikasi terhadap senyawa pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang lunak *Sarcophyton* sp. dilakukan dengan Spektrofotometri UV – Visibel. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran. Pengukuran diameter aktivitas bakteri dilakukan dengan alat jangka sorong.

Pigmen karotenoid diekstrak dari bakteri *Pseudoalteromonas rubra* yang merupakan bakteri simbiosis dari karang lunak *Sarcophyton* sp. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metanol dingin Ekstrak pigmen yang didapatkan dikeringkan menggunakan gas nitrogen sehingga didapatkan ekstrak kering. Ekstrak yang didapat dilarutkan dalam pelarut DMSO dan dibuat dalam konsentrasi 0,5 %, 0,75 %, dan 1 % untuk dilakukan uji aktifitas antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi sumuran. Amoksisilin trihidrat 0,05 % digunakan sebagai kontrol positif. Media yang mengandung suspensi bakteri patogen dan ekstrak pigmen karotenoid bakteri simbiosis diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Zona hambat di sekitar sumuran mengindikasikan bahwa

terdapat aktivitas antibakteri ekstrak pigmen karotenoid bakteri simbiosis.

Data diameter daya hambat kemudian dianalisis dengan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Langkah awal analisis SPSS adalah uji normalitas dan homogenitas. Data dikatakan berdistribusi normal dan homogen jika nilai signifikansi lebih dari 0,05. Selanjutnya bila data berdistribusi normal dan homogen dilakukan uji ANAVA satu jalan dengan nilai signifikansi kurang dari 0,05, selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil didapatkan 5 isolat bakteri simbiosis. Dari 5 koloni bakteri tersebut diambil 1 koloni bakteri yang mengandung pigmen karotenoid yang berwarna orange dengan kode CBSCP 23. Koloni bakteri tersebut kemudian dimurnikan hingga didapatkan koloni tunggal yang disajikan pada tabel 1 dan gambar 1.

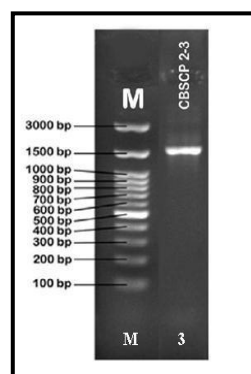
Tabel 1. Hasil Isolasi Bakteri Simbiosis Karang Lunak *Sarcophyton sp.*

No	Kode Isolat	Warna	Bentuk	Tekstur
1	CBSCP 21	Putih	Bulat	Halus
2	CBSCP 22	Kuning	Tak Beraturan	Berkerut
3	CBSCP 23	Orange	Bulat	Halus
4	CBSCP 24	Orange transparan	Bulat	Berkerut
5	CBSCP 25	Putih	Bulat	Halus

Berdasarkan hasil amplifikasi 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat bakteri simbiosis CBSCP 23 menghasilkan pita basa 1500 bp sesuai dengan perbandingan menggunakan marker DNA. Menurut Sabdono (2006), ukuran pita basa sekitar 1500 – 1600 bp merupakan ukuran dari sekuens 16S rDNA bakteri. Hasil visualisasi DNA menggunakan elektroforesis disajikan pada gambar 2.

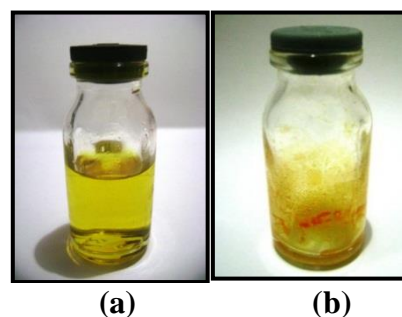


Gambar 1. Hasil Purifikasi Bakteri Simbiosis CBSCP 23



Gambar 2. Visualisasi Hasil Amplifikasi (M) Marker, (3) DNA Bakteri Simbiosis CBSCP 23

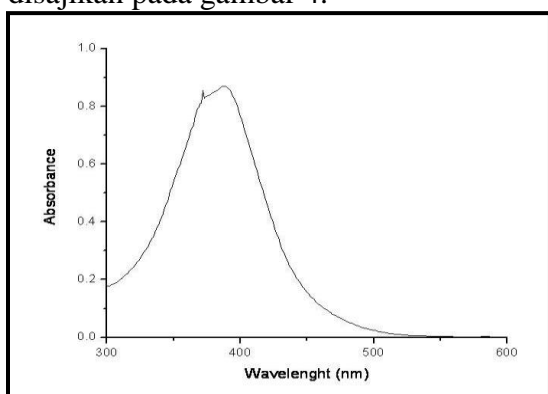
Dari berat basah sel bakteri simbiosis CBSCP 23 sebanyak 2,8820 gram didapatkan ekstrak pigmen kering sebanyak 0,1560 gram. Hasil rendemen diperoleh 5,41 %. Selanjutnya ekstrak kering pigmen dibuat dalam konsentrasi 0,5 %, 0,75 %, dan 1 % untuk uji aktivitas antibakteri. Hasil ekstraksi pigmen bakteri simbiosis CBSCP 23 disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil Ekstraksi Pigmen Karotenoid Bakteri Simbiosis CBSCP 23, (a) Pigmen Kering (b) Larutan Pigmen

Identifikasi kandungan pigmen karotenoid bakteri simbiosis CBSCP 23 dilakukan dengan

menggunakan spektrofotometer. Pada pengujian spektrofotometer dilakukan dengan pengukuran pola spektra menggunakan spektrofotometer visibel dengan rentang 350 – 800 nm. Hasil pengukuran pola pigmen yang diperoleh masuk pada rentang 300 – 600 nm. Menurut Gross (1991), pigmen karotenoid memiliki serapan disekitar 300 – 600 nm yaitu didaerah merah. Berdasarkan hasil pola spektra yang diperoleh dapat dikatakan bahwa pigmen yang terkandung dalam bakteri simbion CBSCP 23 merupakan pigmen karotenoid. Hasil pola spektra Pigmen karotenoid bakteri simbion CBSCP 23 disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Pola Spektra Pigmen Karotenoid Bakteri Simbion CBSCP 23

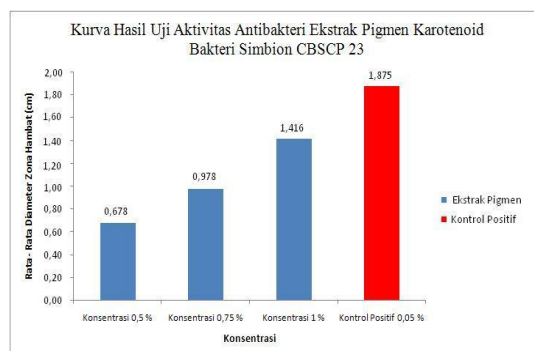
Uji aktivitas antibakteri ekstrak pigmen karotenoid bakteri simbion CBSCP 23 dilakukan dengan metode difusi sumuran. Pada metode sumuran sampel yang digunakan akan lebih mudah berdifusi kedalam media dikarenakan sumuran yang dibuat dapat menampung sampel lebih banyak. Sampel yang ditanam pada lubang sumuran dapat kontak langsung dengan media suspensi bakteri, sehingga zona hambat dapat terbentuk dengan baik. Media yang digunakan adalah MSA (*Mannitol Salt Agar*), karena media MSA bersifat selektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Media MSA bersifat selektif karena mengandung garam NaCl yang cukup tinggi dengan konsentrasi 7,5% – 10%. Pada media MSA koloni *Staphylococcus aureus* berwarna kuning, hal ini dikarenakan pada media MSA mengandung manitol dan indikator *phenol red*. Bakteri *Staphylococcus aureus* pada media MSA mampu memfermentasi manitol menghasilkan asam

organik. Asam tersebut dapat mengubah warna dari indikator *phenol red* dari merah menjadi kuning (Hodges, 2000).

Dimethyl Sulphoxide (DMSO) digunakan sebagai kontrol negatif. Pemilihan DMSO sebagai pelarut karena mampu melarutkan pigmen karotenoid bakteri simbion CBSCP 23 tanpa memiliki aktivitas antibakteri. DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan komponen polar dan non polar (Reynolds, 1982). DMSO membantu pigmen karotenoid berdifusi ke dalam media, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan maksimal. DMSO tidak mempunyai aktivitas antimikroba sehingga tidak mempengaruhi kerja dari pigmen karotenoid.

Amoksisilin trihidrat digunakan sebagai kontrol positif karena bersifat bakterisid terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Mekanisme kerja amoksisilin dalam membunuh bakteri adalah dengan cara merusak fungsi dinding sel bakteri. Amoksisilin mempunyai rumus cincin β -laktam sehingga dapat mempengaruhi kerja enzim dalam membentuk peptidoglikan yang merupakan komponen pembentuk dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan sintesis dinding sel terganggu dan menyebabkan sel lisis (Jawetz dkk., 2005).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan lima kali replikasi. Hasil inokulasi diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C karena waktu dan suhu tersebut optimal untuk pertumbuhan bakteri. Konsentrasi pigmen karotenoid bakteri simbion CBSCP 23 yang digunakan adalah 0,5%, 0,75%, dan 1%. Hasil uji aktivitas antibakteri yang diperoleh disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Kurva Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pigmen Karotenoid Bakteri Simbion CBSCP 23

Berdasarkan gambar 5 dapat diamati bahwa peningkatan konsentrasi 0.5 % hingga 1 % pada ekstrak pigmen karotenoid bakteri simbion CBSCP 23 menghasilkan zona hambat yang semakin besar, hal ini dikarenakan konsentrasi senyawa karotenoid semakin meningkat sehingga kemampuan untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 semakin besar. Diameter zona hambat pigmen karotenoid bakteri simbion CBSCP 23 diuji statistika menggunakan SPSS 16 untuk mengetahui perbedaan antar konsentrasi pigmen karotenoid. Hasil uji SPSS 16 menunjukkan bahwa data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen. Data dikatakan berdistribusi normal dan homogen jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji ANAVA satu jalan. Hasil ANAVA menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui letak perbedaan antar kelompok yang disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc* Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Pigmen Karotenoid Bakteri Simbion CBSCP 23

Kelompok	Signifikasi	Keterangan
Konsentrasi 0,5 % vs Konsentrasi 0,75 %	0,000	Berbeda signifikan
Konsentrasi 0,5 % vs Konsentrasi 1 %	0,000	Berbeda signifikan
Konsentrasi 0,5 % vs Kontrol Positif	0,000	Berbeda signifikan
Konsentrasi 0,75 % vs Konsentrasi 1 %	0,000	Berbeda signifikan
Konsentrasi 0,75 % vs Kontrol Positif	0,000	Berbeda signifikan
Konsentrasi 1 % vs Kontrol Positif	0,000	Berbeda signifikan

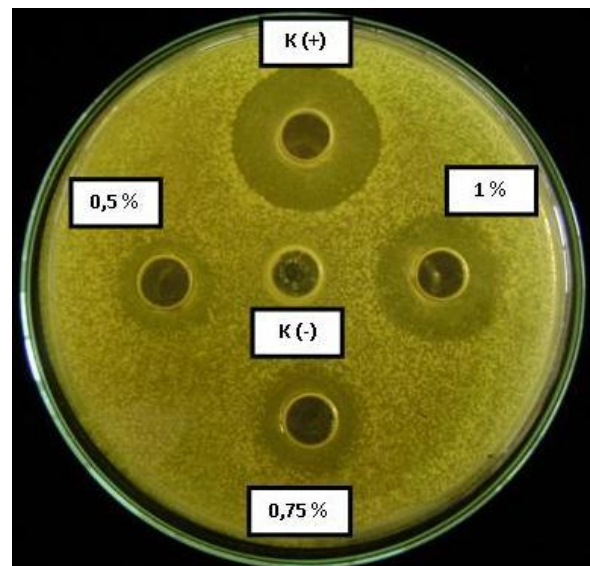
Hasil uji *Post Hoc* pada tabel 5 menunjukkan bahwa konsentrasi 0,5 %, 0,75 %, dan 1 % ekstrak metanol pigmen karotenoid bakteri simbion CBSCP 23 diperoleh nilai signifikansi $< 0,05$ yang berarti ada perbedaan signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri didapatkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak pigmen karotenoid maka aktivitas

antibakterinya semakin besar. Mekanisme karotenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan menyebabkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat (Cowan, 1999). Data pengukuran aktivitas antibakteri disajikan pada tabel 3 dan gambar 6.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pigmen Karotenoid Bakteri Simbion CBSCP 23

Replikasi	Diameter Zona Hambat (cm)				
	Pigmen Karotenoid CBSCP 23			Kontrol	
	0,5 %	0,75 %	1 %	Positif	Negatif
1	0,714	0,973	1,532	1,999	0,000
2	0,802	1,056	1,433	1,912	0,000
3	0,658	1,079	1,345	1,794	0,000
4	0,622	0,861	1,384	1,769	0,000
5	0,596	0,923	1,384	1,900	0,000
Rata-rata	0,678	0,978	1,416	1,875	0,000



Keterangan :

0,5 % : Konsentrasi pigmen karotenoid 0,5 %

0,75 % : Konsentrasi pigmen karotenoid 0,75 %

1 % : Konsentrasi pigmen karotenoid 1 %

K (+) : Amoksisilin trihidrat 0,05 %

K (-) : DMSO

Gambar 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Pigmen Karotenoid Bakteri Symbion CBSCP 23

Kontrol negatif DMSO tidak memberikan aktivitas antibakteri sehingga diameter zona bening yang dihasilkan dikarenakan adanya senyawa ekstrak pigmen karotenoid dari bakteri symbion CBSCP 23 yang berdifusi kedalam media. Kontrol positif yang digunakan adalah amoksisilin trihidrat dengan mekanisme kerja merusak fungsi dinding sel bakteri. Amoksisilin mempunyai rumus cincin β -laktam sehingga dapat mempengaruhi kerja enzim dalam membentuk peptidoglikan yang merupakan komponen pembentuk dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan sintesis dinding sel terganggu dan menyebabkan sel lisis (Jawetz, dkk., 2005).

V. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini diperoleh simpulan bahwa ekstrak metanol pigmen karotenoid dari bakteri symbion karang lunak *Sarcophyton* sp. mempunyai aktivitas antibakteri. Ekstrak pigmen karotenoid bakteri symbion karang lunak *Sarcophyton* sp. dengan kode isolat CBSCP 23 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ada perbedaan aktivitas antibakteri beberapa konsentrasi ekstrak metanol pigmen karotenoid bakteri symbion karang lunak *Sarcophyton* sp. Pada konsentrasi 0,5 %, 0,75 %, 1 %, dan kontrol positif menunjukkan perbedaan signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

Chau V. M., Do C. T., & Dinh T. T. T. (2010). Carotenoid from The Soft Coral *Sarcophyton elegans*. *J. Chem*, 48 (5).

Cowan, M. (1999). Plant Product as Antimicrobial Agent. *Clinical Microbiology Review*, 12 (4), 564–582.

Desiana. (2000). Ekstraksi Pigmen Karotenoid dari Limbah Udang Windu. Skripsi. IPB.

Dworkin, M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., & Stackebrandt, E. (2006). *The Prokaryotes A Handbook on*

The Biology of Bacteria Third Edition Volume 6. Singapore: Springer.

Entjang. (2003). *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Perawat dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat.* Bandung: PT. Citra Aditia Bakti.

Fabricius, K. (1995). Slow Population Turnover In The Soft Coral Genera *Sinularia* and *Sarcophyton* On Mid- and Outer-Shelf Reefs of The Great Barrier Reef. *Mar. Ecol. Prog. Ser*, 126, 145-152.

Faulkner, D.J. (2008). Highlights of Marine Natural Products Chemistry. *J. Nat Prod. Rep.*, 17, 1-6.

Gauthier, M.J. (1995). *Alteromonas rubra* sp. nov., a New Marine Antibiotic-Producing Bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol*, Oct 1976, 459–466.

Gross, J. (1991). *Pigments in vegetables, Chlorophylls and carotenoids.* New York: An avi Book, Van Nostrand Reinhold.

Hangstrom, A., Pihassi, J., & Zweifel, U. L. (2000). Biogeographical Diversity Among Marine Bacterioplankton. *Aquat Microbiol Ecol*, 21, 231–244.

Hardiningtyas, S.D., (2009). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton* sp yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Hodges, N. (2000). *Handbook Of Microbiological Quality Control.* New York : Taylor & Francis Inc.

Jawetz, Melnick, & Alberg. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran.* Diterjemahkan oleh Nugroho, E., Edisi 20. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Nybakken, J.W. (1982). *Marine Biology : An Ecological Approach.* Jakarta : Gramedia.

Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta : Erlangga

- Radjasa, O. K., Limantara, L., & Sabdono, A. (2009). Antibacterial activity of a pigment producing-bacterium associated with *Halimeda* sp. From land-locked marine lake Kakaban, Indonesia. *J. Coast. Dev*, 12, 100-104.
- Reynold, James E.F., & Martindale. (1982). *The Extra Pharmacopeia*, Twenty-eight edition. London : The Pharmaceutical Press.
- Sabdono, A. (2006). Biodegradation of chloropyrifos by a marine bacterium *Bacilus firmus* strain BY6 associated with branching coral *Acropora* sp. *J. Coast. Dev*, 10, 115–123.
- Salisbury, F.B. & Ross, C.W. (1995). *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Bandung : Penerbit ITB.
- Sawant, S.S., Youssef, D.T.A., Reiland, J., Ferniz, M., Marchetti, D., & El-Sayed, K.A. (2006). Biocatalytic and Antimetastatic Studies of the Marine Cembranoids Sarchopine and 2-epi-16-deoxysarchopine. *J. Nat. Prod*, 69, 1010 – 1013.
- Tursch, B., Braekman, J.C., Daloze, D., & Kasin, M. (1978). Terpenoid from Coelenterata. In : Scheuer P.J.(ed.) *Marine Natural Products, Chemical and Biological Perspective II*. Academic Press N.Y., 247 – 296.
- Winarno, F.G. (2002). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.