

PERBANDINGAN EFEKTIVITAS EKSTRAK *Sea sponge* (*Aplysina Fistularis*) DAN KOMBINASI EKSTRAK *Sea sponge* (*Aplysina Fistularis*) DENGAN ANTIBIOTIK Kloramfenikol TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi* PADA MEDIA AGAR SECARA IN VITRO

Dhea Kharisma Ardelia¹, Rizqi Rokhmadoni Pikir²
Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya Jawa Timur
Indonesia
Dheakharisma19@gmail.com

Naskah Masuk 23 Januari 2024, Revisi 30 April 2024, Layak Terbit 31 Mei 2024

Abstrak

Latar Belakang : Demam tifoid adalah salah satu penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Multi Drug Resistance menyebabkan kekebalan pada beberapa antibiotik dalam pengobatan demam tifoid. *Sea sponge* (*Aplysina fistularis*) adalah salah satu biota laut dan mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas ekstrak *Sea sponge* (*Aplysina fistularis*) dan kombinasi ekstrak *Sea sponge* (*Aplysina fistularis*) dengan antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan posttest only control group design. Terdapat empat kelompok ekstrak dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dan empat kelompok kombinasi ekstrak dengan kloramfenikol yang berkonsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% serta dua kelompok kontrol yaitu negatif (DMSO 0,2%) dan positif (kloramfenikol).

Hasil : Rata-rata diameter zona hambat dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol negatif adalah 6,00 mm, kombinasi ekstrak *Sea sponge* (*Aplysina fistularis*) dan kloramfenikol dengan konsentrasi 25% adalah 25,95 mm, konsentrasi 50% adalah 26,47 mm, konsentrasi 75% adalah 28,74 mm, konsentrasi 100% adalah 35,84 mm dan kontrol positif adalah 33,25 mm. Analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis dengan $p=0,001$.

Kesimpulan : Kombinasi ekstrak *Sea sponge* (*Aplysina fistularis*) dengan kloramfenikol memiliki efektivitas yang lebih besar terhadap *Salmonella typhi* dibandingkan dengan ekstrak *Sea sponge* (*Aplysina fistularis*).

Kata kunci : *Aplysina fistularis*, *Salmonella typhi*, uji zona hambat

Abstract

Background : Typhoid fever is an infectious disease caused by *Salmonella typhi* bacteria. Multi Drug Resistance causes immunity to several antibiotics in the treatment of typhoid fever. *Sea sponge* (*Aplysina fistularis*) is one of the marine biota and contains compounds that function as antibacterials.

Purpose : This study aims to determine the comparison of the effectiveness of *Sea sponge* extract (*Aplysina fistularis*) and the combination of *Sea sponge* extract (*Aplysina fistularis*) with chloramphenicol antibiotics against *Salmonella typhi* bacteria.

Method : This research is a laboratory experimental research with posttest only control group design. There were four groups of extracts with concentrations of 25%, 50%, 75%, 100% and four groups of extract combinations with chloramphenicol with concentrations of

25%, 50%, 75%, 100% and two control groups, negative (DMSO 0.2%) and positive (chloramphenicol).

Result : The average diameter of the inhibition zone with a concentration of 25%, 50%, 75%, 100% and negative control was 6.00 mm, the combination of Sea sponge extract (*Aplysina fistularis*) and chloramphenicol with a concentration of 25% was 25.95 mm, a concentration of 50% was 26.47 mm, a concentration of 75% was 28.74 mm, a concentration of 100% was 35.84 mm and positive control was 33.25 mm. Data analysis used Kruskal-Wallis test with $p=0.001$.

Conclusion : The combination of Sea sponge extract (*Aplysina fistularis*) with chloramphenicol has greater effectiveness against *Salmonella typhi* compared with Sea sponge extract (*Aplysina fistularis*).

Keyword: *Aplysina fistularis*, *Salmonella typhi*, zone inhibition test

PENDAHULUAN

Berbagai macam penyakit sering muncul di sebagian wilayah Indonesia dikarenakan tingginya curah hujan dan mutu sanitasi yang buruk. Bakteri, virus dan parasit dapat mengakibatkan penyakit infeksi tropis yang merupakan salah satu kondisi Kesehatan yang sering terjadi (1). Demam tifoid seringkali diakibatkan oleh *Salmonella typhi* dan menjadi bagian dari jenis penyakit infeksi yang umum terjadi (2).

Demam tifoid diartikan sebagai suatu penyakit yang umum terjadi dan memiliki potensi untuk mengancam kesehatan masyarakat Indonesia karena termasuk sebagai penyakit endemik (3).

Menurut WHO pada tahun 2023, penyakit infeksi yang terjadi akibat bakteri *Salmonella typhi* melalui kontaminasi makanan dan air disebut dengan demam tifoid. Beberapa faktor risikonya terkait dengan rendahnya tingkat pendidikan, kontak dengan pasien demam tifoid, kurangnya akses air bersih dan kurangnya kesadaran akan

sanitasi (4). Gejala klinis demam tifoid memiliki tingkat keparahan yang beragam, mulai dari yang tidak parah hingga yang parah. Demam, malaise, nyeri perut dan konstipasi merupakan gejala klinis umum dari demam tifoid (Levani dan Prastya, 2020). Di Indonesia, angka prevalensi demam tifoid mencapai 1,60% dan kasus ini, pada rentang usia lima hingga empat belas tahun sering terjadi. Penularan demam tifoid terjadi akibat kurangnya kesadaran akan kebersihan pribadi dan kebiasaan makan sembarangan (5).

Tatalaksana dengan antibiotik dan tatalaksana umum merupakan dua tatalaksana yang sering digunakan untuk demam tifoid. Pada anak, kloramfenikol merupakan antibiotik lini pertama untuk kasus demam tifoid, sedangkan obat-obatan seperti ofloksasin, siprofloksasin, levofloksasin yang merupakan obat-obatan dari kelompok fluorokuinolon atau obat-obatan dari kelompok gatifloksasin adalah antibiotik lini pertama untuk dewasa. Multi Drug Resistance (MDR) didefinisikan sebagai resistensi terhadap antibiotik-

antibiotik yang digunakan dalam tatalaksana demam tifoid (6).

Untuk mengatasi resistensi terhadap antibiotik-antibiotik tersebut, diperlukan adanya terapi pengganti atau metode pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan-bahan alami (7). Indonesia merupakan negara maritim dan memiliki wilayah lautan yang luas. Spons laut merupakan salah satu bentuk kekayaan sumber daya alam di laut Indonesia yang juga merupakan biota laut yang mengandung senyawa-senyawa bioaktif. Spons dapat diterapkan sebagai bahan atau obat antibakteri, antikanker dan antiparasit karena memiliki aktivitas antimikroba tinggi yang diisolasi oleh sebagian senyawa dari spons (8).

Menurut Integrated Taxonomic Information System (ITIS), A.

fistularis termasuk dalam kelas Demospongiae yang merupakan kelas terbesar dan paling beragam serta diketahui dapat menghasilkan metabolit yang berbeda secara kimiawi termasuk terpene, alkaloid, makrolida, peptide, betain, ceramide, lipid dan senyawa terhalogenasi yang berpotensi untuk digunakan dalam aplikasi industri dan medis termasuk antivirus, antitumor, antimikroba atau secara umum bersifat sitotoksik (9).

Menurut latar belakang diatas, peneliti ingin mengetahui apakah ekstrak *Aplysina fistularis* dan kombinasi ekstrak *Aplysina fistularis* dengan antibiotik kloramfenikol dapat menghambat perkembangan bakteri *Salmonella typhi* pada media agar secara in vitro. Peneliti berharap dapat ditemukan obat alternatif lain yang berasal dari bahan-bahan alami untuk penyakit infeksi lainnya

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan jenis penelitian eksperimental dengan *posttest only control group design*.

Alat dan Bahan

Alat : Blender, Vacuum rotary evaporator, Kertas saring, Cawan petri, Erlenmeyer, Kain lap, Gelas ukur, Tabung reaksi dan rak, Corong, Spatula, Batang pengaduk, Ose, Vortex, Mikropipet, Pipet tes, Laminar air flow, Autoclave, Microwave, Timbangan digital, Digital caliper.

Bahan : Ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)*, Bakteri *Salmonella typhi*, Media agar *Mueller hinton*, Aquades, DMSO 0,2%, Kloramfenikol 50 mg, Etanol 96%.

Pembuatan Ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)*

Pembuatan ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* menggunakan metode maserasi. Ekstrak *Aplysina fistularis* dibuat dengan dihancurkan dan direndam menggunakan pelarut etanol 96% dalam sampel yang telah dihaluskan dan dimasukkan ke dalam bejana serta hindari cahaya matahari secara langsung agar tidak terjadi kontaminasi dan kerusakan. Proses perendaman dilakukan selama 3x 24 jam dengan pengadukan setiap 8 jam. Maserat 1 di dapat dari campuran simplisia dan pelarut setelah 3 hari. Ampas *sponge* direndam kembali menggunakan pelarut selama 24 jam, kemudian difiltrasi untuk mendapatkan maserat 2. Pisahkan maserat 1 dan 2 yang diendapkan

semalaman dari residu, lalu dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak yang pekat sebanyak ± 200 ml.

Pembuatan Media Agar

10 gram bubuk agar *Mueller Hinton* dilarutkan menggunakan aquades 100 mL pada Erlenmeyer steril lalu diaduk dengan batang pengaduk dan dipanaskan. Sterilisasi di autoklaf selama 15 menit kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam pada inkubator.

Uji Aktivitas Bakteri

Uji aktivitas bakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Larutan media agar *Mueller Hinton* yang sudah dibuat, dituangkan ke 12 cawan petri yang sudah ditandai dan tunggu hingga memadat. Bakteri *Salmonella typhi* diambil menggunakan ose kemudian dioleskan ke 12 media agar. Kemudian meletakkan kertas cakram saring yang steril dicelupkan ke setiap ekstrak *Aplysina fistularis* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dan kombinasi ekstrak *Aplysina fistularis* konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dengan antibiotik kloramfenikol. Untuk 3 cawan lain digunakan sebagai kontrol positif dengan kloramfenikol dan kontrol negatif dengan DMSO 0,2%. Inkubasi sampel di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam lalu mengukur zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

HASIL

Ekstrak *Sea sponge*

Zona hambat yang terbentuk pada kelompok perlakuan yang hanya diberi ekstrak *Sea sponge* dapat dilihat pada

Gambar 1. Berdasarkan gambar tersebut, diameter zona hambat untuk kelompok kontrol positif lebih besar daripada zona hambat yang terbentuk pada kelompok kontrol negatif dan ekstrak *Sea sponge* berkonsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

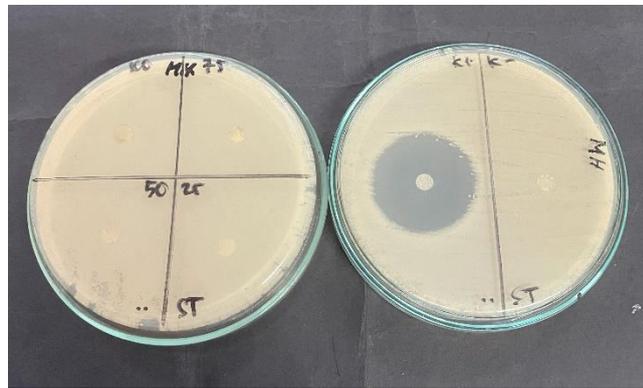
Perbandingan diameter zona hambat kontrol negatif, kontrol positif dan ekstrak *Sea sponge* dapat kita lihat pada Tabel 1.

Kombinasi Ekstrak *Sea sponge* dengan Kloramfenikol

Zona hambat yang terbentuk pada kelompok perlakuan kombinasi ekstrak *Sea sponge* dengan

kloramfenikol dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan gambar tersebut, diameter zona hambat untuk kelompok kombinasi ekstrak *Sea sponge* dengan kloramfenikol berkonsentrasi 100% lebih besar daripada zona hambat yang terbentuk pada kelompok kombinasi ekstrak *Sea sponge* dengan kloramfenikol berkonsentrasi 25%, 50% dan 75%.

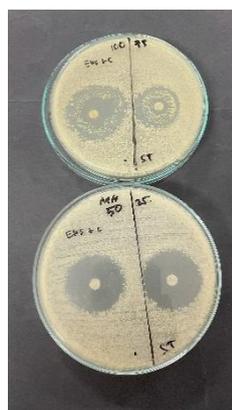
Perbandingan diameter zona hambat kontrol negatif, kontrol positif dan kombinasi ekstrak *Sea sponge* dengan kloramfenikol dapat kita lihat pada Tabel 2.



Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk pada kelompok perlakuan kontrol negatif, kontrol positif dan ekstrak *Sea sponge*

Tabel 1. Perbandingan diameter zona hambat pada kelompok perlakuan kontrol negatif, kontrol positif dan ekstrak *Sea sponge*

Perlakuan	K(-)	K(+)	KP1	KP2	KP3	KP4
I	6,00	34,06	6,00	6,00	6,00	6,00
II	6,00	33,47	6,00	6,00	6,00	6,00
III	6,00	32,22	6,00	6,00	6,00	6,00
Rata-Rata	6,00	33,25	6,00	6,00	6,00	6,00



Gambar 2. Zona hambat yang terbentuk pada kelompok kombinasi ekstrak *Sea sponge*

Tabel 2. Perbandingan diameter zona hambat pada kelompok perlakuan kontrol negatif, kontrol positif dan ekstrak *Sea sponge*

Perlakuan	K(-)	K(+)	KG5	KG6	KG7	KG8
I	6,00	34,06	26,91	27,06	27,70	38,19
II	6,00	33,47	23,86	24,56	27,00	34,60
III	6,00	32,22	27,10	27,80	31,53	34,74
Rata-Rata	6,00	33,25	25,95	26,47	28,74	35,84

PEMBAHASAN

Penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas bakteri *Salmonella typhi*. Hal ini dapat diamati melalui kandungan senyawa metabolik sekunder dalam ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* seperti flavonoid, polifenol, saponin, steroid, alkaloid, dan terpenoid. Senyawa-senyawa ini diduga memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri tersebut.

Pada penelitian ini faktor yang menyebabkan terbentuknya zona hambat pada kombinasi ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan antibiotik kloramfenikol adalah adanya senyawa metabolik sekunder yang terkandung dalam ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)*. Adanya interaksi kombinasi antara ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan antibiotik kloramfenikol mengakibatkan terjadinya efek sinergis atau efek antagonis, yaitu suatu proses di mana beberapa zat bekerja sama untuk mencapai efek gabungan yang lebih besar daripada jumlah efek masing-masing zat.

Pada ekstrak *Sea sponge (Aplysina*

fistularis) tidak terbentuknya zona hambat terjadi karena bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel dengan struktur lipopolisakarida kompleks yang bisa menghambat ekstrak masuk ke dalam sel mikroba, namun pada penelitian yang dilakukan oleh Rumampuk, Wowor dan Mambo pada tahun 2017 menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dapat dihambat dengan 100 mg/ml ekstrak *Callyspongia aerizusa* dalam kategori lemah.

Parameter kekuatan daya hambat dikategorikan menjadi kategori sangat kuat dengan diameter ≥ 20 mm, kategori kuat dengan diameter antara 10-20 mm, kategori sedang dengan diameter antara 5-10 mm dan kategori lemah dengan diameter ≤ 5 mm (10). Menurut hasil penelitian ini, pemberian ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol negatif memiliki diameter zona hambat 6,00 mm, sedangkan pemberian kombinasi ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dan antibiotik kloramfenikol dengan konsentrasi 25% memiliki diameter zona hambat 25,95 mm, konsentrasi 50% memiliki diameter zona hambat 26,47 mm, konsentrasi 75% memiliki

diameter zona hambat 28,74 mm, konsentrasi 100% memiliki diameter zona hambat 35,84 mm dan kontrol positif memiliki diameter 33,25 mm, sehingga dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan antibiotik kloramfenikol memiliki aktivitas menghambat bakteri *Salmonella typhi* dalam kategori sangat kuat. Bukti ini terlihat dalam bentuk rata-rata diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi, termasuk 25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol positif adalah ≥ 20 mm, sedangkan ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* tidak memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri *Salmonella typhi* karena rata-rata diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi, yaitu 25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol negatif adalah 6,00 mm atau tidak ada zona hambat.

KESIMPULAN

Perbandingan antara ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dibandingkan dengan kombinasi ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan antibiotik kloramfenikol dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*, menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan antibiotik kloramfenikol memiliki efektivitas yang lebih besar daripada ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)*.

SARAN

1. Perlu dilakukan uji secara in vivo untuk memperkuat kesimpulan bahwa kemampuan kombinasi ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan antibiotik kloramfenikol berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif maupun tambahan pengobatan demam tifoid di kemudian hari.
2. Perlu dilakukan uji daya hambat bakteri *Salmonella typhi* menggunakan kombinasi ekstrak *Sea sponge (Aplysina fistularis)* dengan antibiotik demam tifoid lainnya untuk mengetahui kemampuan kombinasi tersebut dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada keluarga, teman, dosen, dan pihak civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Putri F P, Hindayati M. IMPLEMENTASI CERTAINTY FACTOR PADA DIAGNOSA PENYAKIT INFEKSI TROPIS Certainty Factor Implementation on Tropical Infection Disease Diagnostics. *Jurnal Riset Sains dan Teknologi*. 2017;1(1):22.
2. Sandika J, Suwandi JF. Sensitivitas *Salmonella thypi* Penyebab Demam Tifoid terhadap Beberapa Antibiotik. *Majority*. 2017;6(1):41.
3. Verliani H, Laily Hilmi I, Salman. Faktor Risiko Kejadian Demam Tifoid di Indonesia 2018-2022: Literature Review. *Jurnal Kesehatan Jompa*. 2022;1(2):144.
4. Alba S, Bakker MI, Hatta M, Scheelbeek PFD, Dwiyantri R, Usman R, et al. Risk factors of typhoid infection in the Indonesian archipelago. *PLoS One*. 2016 Jun 1;11(6):2.
5. Ulfa F, Handayani OWK. 227 HIGEIA 2 (2) (2018) HIGEIA JOURNAL OF PUBLIC HEALTH RESEARCH AND DEVELOPMENT KEJADIAN DEMAM TIFOID DI WILAYAH KERJA PUSKESMAS PAGIYANTEN Info Artikel. *Higeia journal of public health research and development [Internet]*. 2018;2(2):228. Available from: <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/higeia>
6. Ardiaria M. EPIDEMIOLOGI, MANIFESTASI KLINIS, DAN PENATALAKSANAAN DEMAM TIFOID. *JNH (Journal of Nutrition and Health)*. 2019;7(2):36–7.
7. Setianingsih H, Miranda S, Tjahjono RVJ, Utami PD. Lethal concentration of golden sea cucumber killed *Vibrio cholerae*. *Bali Medical Journal*. 2021 Aug 1;10(2):708–12.
8. Schram S, Tumbol R, Kreckhoff R. PENGGUNAAN EKSTRAK KASAR SPONGS LAUT UNTUK MENINGKATKAN RESISTENSI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) TERHADAP INFEKSI (*Streptococcus agalactiae*). *Jurnal ilmiah platax*. 2019;7(2):348.
9. Orfanoudaki M, Hartmann A, Alilou M, Mehic N, Kwiatkowski M, Jöhrer K, et al. Cytotoxic compounds of two demosponges (*Aplysina aerophoba* and *Spongia* sp.) from the Aegean sea. *Biomolecules*. 2021 May 1;11(5).
10. Rumampuk YBJ, Wowor PM, Mambo CD. Uji Daya Hambat Ekstrak Spons Laut (*Callyspongia Aerizusa*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi* dan *Streptococcus Pyogenes*. Vol. 5, *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 2017.