

UJI DAYA HAMBAT SENYAWA BIOAKTIF SPONGE *Haliclona sp*
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

HERMAWATY ABUBAKAR

1141197038

Skripsi ini untuk melengkapi tugas dan memenuhi
syarat untuk memperoleh gelar Sarjana

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2002

HALAMAN PENGESAHAN

JUDUL : UJI DAYA HAMBAT SENYAWA BIOAKTIF SPONGE *Haliclona sp*

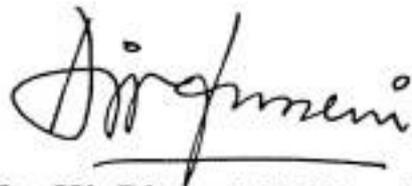
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

NAMA: HERMAWATY ABUBAKAR

NIM : H 41197038

DISETUJUI OLEH

Pembimbing Utama



Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA
NIP. 131 570 872

Pembimbing Pertama



Prof. Dr. Alfian Noor, MSc
Nip. 130 520 685

Pembimbing Kedua



Dr. Magdalena Litaay, MSc
Nip. 131 862 960

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat, hidayah, serta karunia ilmu kepada hambanya, sehingga atas izin dan perkenaan-Nya maka skripsi ini dapat tersusun sebagaimana mestinya.

Penulis dalam menyelesaikan skripsi telah mendapat banyak bimbingan, motivasi dan bantuan dari berbagai pihak yang sangat berharga bagi penulis. Atas bantuan tersebut selayaknyalah pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Ibu Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA selaku pembimbing utama sekaligus ketua jurusan Biologi, F. MIPA Unhas, Bapak Prof. Dr. Alfian Noor, MSc selaku pembimbing I dan Ibu Dr. Magdalena Litaay, MSc selaku pembimbing II yang dengan tulus dan sabar meluangkan waktunya memberikan bimbingan dan motivasi sehingga skripsi ini dapat penulis rampungkan.
2. Bapak Prof. Dr. H. M. Noor Jalaluddin, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
3. Ibu Hj. Sry Suhadyah, M.Agr, selaku penasehat akademik dari penulis.
4. Bapak dan Ibu dosen yang telah membimbing penulis sejak penulis pertama kali menginjakkan kaki di Universitas Hasanuddin sehingga penulis merampungkan tugas akhir ini.
5. Para staf jurusan Biologi, F. MIPA Unhas, yang telah membantu dan melayani penulis dengan baik dan tulus.

6. Kedua Orang Tua yang tercinta, Ayahanda H. Abubakar dan Ibunda Hj. Bunga Matahari yang dengan sabar mengasuh, mendidik dan senantiasa berdoa demi masa depan dan kebahagiaan anak-anaknya.
7. Kakak-kakak penulis Heri, Hera dan Nona serta adik-adik yang tercinta Endang, Indra dan Iyank yang dengan senantiasa memberi dorongan, doa serta bantuan.
8. Teman-temanku Utty, Novi, Uci, Cuwank, Emmi, A.Wia, Lina, Eva, Yana, Irma, Yudi (makasih konsumsinya), dan semua rekan-rekan mahasiswa Biologi, khususnya "angkatan 97".

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu penulis mengharapkan adanya kritikan dan saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat khususnya bagi generasi mendatang.

Makassar, 12 desember 2002

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan pengujian daya hambat senyawa bioaktif sponge *Haliclona sp* yang berasal dari perairan pulau Barrang Lompo terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan meliputi pengujian ekstrak senyawa bioaktif hasil maserasi sponge dengan metanol. Hasil fraksi (ekstrak kasar) diujikan kedua bakteri dan menunjukkan daya hambat masing-masing untuk *E. coli* dan *S. aureus* adalah 15 mm dan 13 mm. Uji fraksinasi berdasarkan kepolaran dan kelarutannya menunjukkan bahwa fraksi etil asetat asam memiliki daya hambat yang paling besar yaitu 17,47 mm untuk *E. coli* dan 18,74 mm untuk *S. aureus*, diikuti oleh fraksi etil asetat netral dan fraksi etil asetat basa. Fraksi air menunjukkan daya hambat 8 mm untuk kedua bakteri uji (bakteriostatik), sementara fraksi n-heksan tidak menunjukkan daya hambat.

Kata kunci : *Haliclona sp*, daya hambat, senyawa bioaktif, *E. coli*, *S. aureus*.

ABSTRACT

A research on testing of bioactive compound in sponge *Haliclona sp*, collected from Barrang Lompo Island on the growth of bacteria *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* have been done. The methanol maseration and fractination methods were used to extract bioactive components, the late was tested to a trial bacteria. The result showed that bioactive compound as crude methanol extract inhibited the growth in *E. coli* and *S. aureus* that of 15 and 13 mm, respectively. The EtoAc acid had the biggest inhibition zone that of 17,47 mm for *E. coli* and 18,47 mm for *S. aureus*, followed by EtoAc neutral and EtoAc base. Water fraction had inhibition zone of 8 mm for the both tested bacteria (bacteriostatic), while n-heksan did not.

Key words : *Haliclona sp*, inhibition zone, bioactive compound, *E. coli*, *S. aureus*



DAFTAR ISI

Kata Pengantar	i
Abstrak	iii
Daftar Isi	v
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Maksud dan Tujuan	2
1.3 Hipotesa	3
1.4 Waktu dan Lokasi	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Sistematika Sponge <i>Halicona sp</i>	4
II.2 Tinjauan Umum Spopnge	5
II.3 Senyawa Bioaktif Sponge	7
II.4 Isolasi dan Pemurnian Senyawa Bioaktif	9
II.5 Antibiotik	10
II.6 Mekanisme Kerja Antibiotika	11
II.7 Bakteri Uji	12
BAB III METODE PENELITIAN	15
III.1 Alat	15
III.2 Bahan	16
III.3 Prosedur Kerja	16

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Hasil	22
IV.2 Pembahasan	27
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32

Daftar Pustaka

Lampiran

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Perairan nusantara yang sangat luas banyak mengandung sumber daya alam yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber penghidupan masyarakat, baik untuk memenuhi kebutuhan pangan, maupun untuk kebutuhan obat-obatan ⁽¹⁾.

Pada perairan tropik terdapat banyak spesies organisme yang berasosiasi pada terumbu karang khususnya dari golongan Invertebrata rendah seperti sponge, karang lunak dan tunikata. Studi tentang nilai ekonomi dari segi kimiawi dan farmasi dalam 3 dekade ini pada organisme laut, memperlihatkan adanya kandungan substansi bioaktif yang mampu dikembangkan untuk pembuatan obat-obatan baru maupun untuk produk lain yang bernilai ekonomi ⁽²⁾.

Di Caribia terdapat seratus dua puluh sponge yang diketahui dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang efektif menyembuhkan beberapa penyakit. Senyawa bioaktif ini telah di "skrining" dan diketahui kemampuannya dan hampir setengah dari senyawa bioaktifnya mengandung substansi antibiotik. Selain itu para peneliti dari sebuah perusahaan di Washington State menguji 40 sampel sponge dari daerah perairan San Diego dan 28 dari sampel diketahui memiliki aktivitas anti mikrobal ⁽³⁾.

Kebanyakan sponge laut menghasilkan kandungan senyawa bioaktif yang memperlihatkan aktivitas antibakteri, antifungi, antivirus dan antitumor. Tim peneliti dari "Fall Program Directed Study" mengujikan kandungan antibakteri sponge laut

dari kelas Demospongia yaitu *Halichondria pacea*, *Ophlitaspongia pennata* dan *Haliclona sp.* Ekstrak dari Demospongia ini diujikan dengan menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sebelumnya isolat senyawa bioaktif tersebut diisolasi dengan menggunakan bermacam-macam teknik kromatografi. Biossay dilakukan dengan menggunakan metode fraksinasi serta pengembangan metode analitik untuk pemisahan dan pemurnian dari molekul yang aktif⁽⁴⁾. Pengujian bioaktif dari ketiga Demospongia tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri yaitu mulai dari yang lemah hingga yang moderat terhadap pertumbuhan bakteri ujinya⁽⁵⁾.

Melihat penyebaran sponge yang cukup luas di perairan Indonesia dan potensi senyawa bioaktifnya, maka kami tertarik untuk mengujikan senyawa bioaktif dari sponge *Haliclona sp* terhadap pertumbuhan bakteri patogen yang biasa dijumpai di daerah perairan laut.

I. 2 Maksud dan Tujuan Penelitian

I.2.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dari sponge *Haliclona sp.* yang dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.

I.2.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengujikan kemampuan senyawa bioaktif dari sponge *Haliclona sp* yang berpotensi menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.

I.3 Hipotesis

Senyawa bioaktif sponge *Haliclona sp* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

I.4 Waktu dan Lokasi Penelitian

I.4.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – September 2002.

I.4.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam tiga tahap, yaitu :

- Pengambilan sampel sponge *Haliclona sp* dilaksanakan di pulau Barrang Lompo, kec Ujung Tanah, Makassar.
- Analisa kimia dilaksanakan di laboratorium Fitokimia, Jurusan Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Analisa mikrobiologi dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, APTISI (Asosiasi Perguruan Tinggi Swasta Indonesia), Makassar.

I.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang daya hambat senyawa bioaktif dari *Haliclona sp* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S.aureus*.

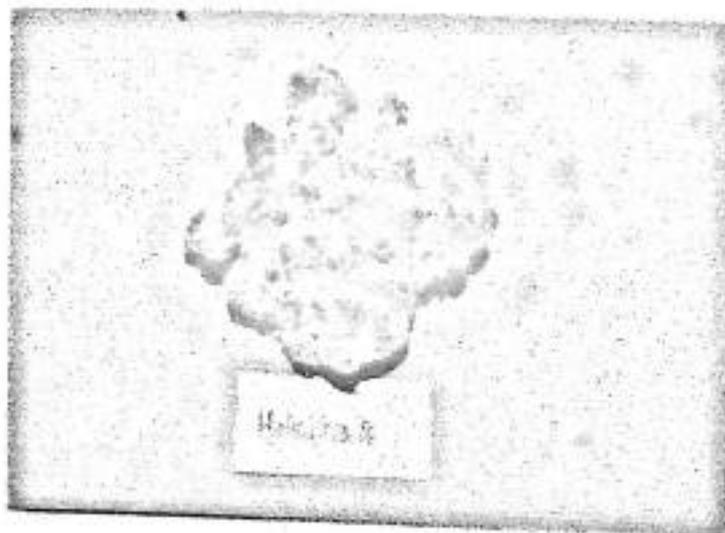
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Sistematika Sponge *Haliclona sp*

Sistematika dari sponge *Haliclona sp*⁽⁶⁾:

- Phylum : Porifera
- Class : Demospongiae
- Ordo : Monaxorida
- Familia : Haliclonidae
- Genus : *Haliclona*
- Spesies : *Haliclona sp*



Haliclona sp

II.2 Tinjauan Umum Sponge

Sponge sebagai anggota dari phylum porifera, adalah hewan multiselluler yang masih primitif. Sekitar 9000 spesies sponge telah ditemukan, dan semuanya hidup didaerah bentik perairan laut. Kebanyakan sponge hidup pada permukaan yang keras dengan membentuk lapisan-lapisan yang tebal atau tipis. Sponge bentik hidup pada substrat yang lunak dan tumbuh dengan struktur yang tinggi dan tegak, sehingga dapat menghindari penimbunan dari perubahan sedimen disekitarnya. Sponge pada karang tropik terdiri dari berbagai ukuran (semeter atau bahkan lebih tinggi pada daerah Caribia), sehingga dapat menjadi penyusun terumbu karang. Umumnya spesies sponge memiliki warna-warna yang cerah seperti hijau, kuning, orange, merah dan ungu serta dijumpai dengan frekuensi yang sering. Warna-warna dari beberapa spesies sponge ini dapat dipengaruhi oleh adanya radiasi matahari⁽⁷⁾.

Spesies pada daerah subtidal dan pada laut dalam yang tidak dihadapkan oleh pasang surut, biasanya memiliki bentuk eksternal yang simetris dan kokoh. Dengan struktur yang unik dan menyusun sistem kanal sebagai struktur yang sesuai dengan sponge yang bersifat sessil. Struktur inilah yang menjadi kunci untuk lebih mengetahui aspek biologis dari sponge. Sponge yang memiliki sistem organ yang sederhana dengan penyusun organ kompleks yang kurang, tetapi memiliki jaringan yang berkembang dan dapat menjalankan berbagai fungsi sehingga sponge tetap dapat bertahan sebagai hewan metazoa yang primitif. Selain itu sponge dapat bertahan karena memiliki 3 atribut yang tepat yaitu; totipotensi dari sel-selnya, sistem penyerapan partikel air dan bentuk tubuh yang umumnya mudah terbentuk dan

proposional. Namun tidak seperti kebanyakan metazoa, sistem penyerapan air yang ditunjukkan oleh spoge yaitu dengan terus menerus mensirkulasi air sebagai sumber nutrisi⁽⁸⁾.

Struktur tubuh porifera kecuali berpori dengan bermacam-macam bentuk, juga dibagi atas tiga tipe yaitu : (1) *ascon*, (2) *sycon* dan (3) *rhagon*. Tipe *ascon* adalah yang paling sederhana dan berbentuk seperti jambangan bunga dengan rongga sentral yang disebut *spongiocoel* atau *paragaster*. Ujung atas dari jambangan terdapat lubang besar yang disebut *osculum*. Pada dinding tubuh hewan ini terdapat lubang-lubang kecil yang disebut *porosofil* atau *ostium*. Lubang itu merupakan pintu masuk aliran air yang menuju kedalam rongga *paragaster*. Dinding tubuh terdiri atas dua lapis yaitu lapisan luar yang disebut lapisan epidermis atau ephitelim dermal, tapi menurut "Lambenfels" sel-sel itu bukan sel epithelium tetapi yang biasa disebut *pinacocyt* yang kadang-kadang mempunyai satu flagellum, dan lapisan dalam yang terdiri atas sel-sel berleher yang disebut *choanocyt* yang berbentuk botol dan memiliki flagellum. Diantaranya terdapat sel antara yang biasa tersusun atas bahan gelatin. Didalam zat antara tersebut terdapat⁽⁹⁾ :

- a. Amoebocyte untuk mengedarkan makanan ke sel-sel lainnya
- b. Porocyte untuk membuka dan menutup pori
- c. Scleroblast untuk membentuk spikula
- d. Archeocyte untuk membentuk sel-sel produktif
- e. Spicula yang merupakan unsur pembentuk tubuh

Penyebaran sponge yang luas pada semua habitat, mengakibatkan banyaknya organisme yang berasosiasi, namun diantara semua hubungan asosiasi yang berupa simbiosis sponge dengan hewan lain umumnya, bersifat komensalisme. Tentu saja hal ini menjadi sulit untuk tidak dimanfaatkan bagi hewan-hewan invertebrata kecil dan seringkali oleh ikan-ikan (seperti ikan Gobies dan ikan Blennis) sebagai tempat perlindungan. Lubang-lubang pada tubuh sponge merupakan tempat atau habitat yang ideal bagi Crustaceae, Ophioroida dan beberapa cacing. Banyak simbiosis yang menggunakan sponge sebagai inang untuk tempat tinggal dan perlindungan, tetapi beberapa malah memangsa sponge dengan menggunakan suspensi partikelnya sebagai makanan. Namun tidak semua simbiosis yang dilakukan oleh sponge adalah simbiosis mutualisme-komensalisme karena pada kenyataannya ada juga pemboran yang dilakukan oleh kelompok demospongia yang menggali material calcareus seperti pada karang dan sel-sel mollusca, dimana fenomena ini disebut sebagai bioerosi⁽⁶⁾.

Namun beberapa mekanisme yang digunakan untuk menghindari predator yaitu dengan jalan biokimiawi dengan menghasilkan biotoksik atau sebagai agen antimikroba yang dihasilkan untuk menghindari predator⁽⁶⁾.

II.3 Senyawa Bioaktif Sponge

Jenis-jenis dari hasil laut seperti senyawa bioaktif dan kandungan kimiawi telah diisolasi dan diidentifikasi sejak 30 tahun yang lalu (Boyd, et.al.,1988⁽¹⁰⁾). Namun tidak kurang dari 25% kandungan senyawa bioaktif tersebut diisolasi dari

sponge, dibandingkan phylum-phylum lain dari invertebrata (Ireland, et.al., 1988⁽¹⁰⁾), karena kemampuan sponge dalam mensintesa berbagai macam produk natural yang sangat produktif. Ditandai dengan semakin banyaknya senyawa bioaktif dari sponge yang terus bertambah, sejauh ini telah dihasilkan struktur dari senyawa bioaktif yang jelas dari 675 spesies sponge melalui berbagai penelitian^(3,11,12).

Data dari National Cancer Institute (Washington) yang telah melalui proses skrining menyatakan bahwa banyak tipe dari produk natural yang menunjukkan aktivitas biologi yang bersifat bioaktif. Aktifitas biologi dari senyawa bioaktif yang berbeda-beda (lebih dari 20 kategori bioaktif dari sponge yang berbeda-beda telah ditemukan) seperti cytotoksin, anti "felling", antitumor, antivirus, antifungi dan antibiotik yang dapat menghambat aktifitas biologis^(12,13).

Para peneliti dalam bidang kelautan menyadari akan banyaknya substansi produksi antimikrobia dari organisme laut khususnya sponge. Pada studi awal penelitian tentang antibiotik yang berasal dari lingkungan laut, yaitu dengan memfokuskan pada kekayaan antimikrobia atau ekstrak sederhana dari organisme laut. Melalui survei yang luas tentang antimikrobia di perairan laut, sponge sering memperlihatkan presentase yang cukup tinggi dari sampel yang diteliti. Identifikasi sponge yang cukup sulit merupakan salah satu kendala tidak teridentifikasinya bioaktif yang dikandung oleh sponge tersebut. Namun telah banyak penelitian mengenai senyawa bioaktif sponge yang menunjukkan sifat antibiotik. Salah satu bioaktif sponge laut yaitu *Haliclona sp* dilaporkan menunjukkan adanya aktivitas antibiotik (Stempient et.al., 1974⁽¹³⁾). Hasil pengujian aktivitas bakteri dari sponge

Haliclona sp., substansi aktif yang telah diisolasi dan diduga sebagai senyawa imidazole⁽¹³⁾. Imidazole yang memiliki efek antibakteri dan anti jamur dengan mekanisme kerja menghambat sintesis ergosterol yang menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat dan mungkin pula terjadi gangguan sintesis asam nukleat atau penimbunan peroksida dalam sel jamur yang akan menimbulkan kerusakan. Senyawa ini mudah larut dalam air dan pelarut polar seperti etanol, aseton dan asetat namun susah larut pada pelarut non polar⁽¹⁴⁾.

II.4 Isolasi dan Pemurnian Senyawa Bioaktif

Isolasi adalah proses pemisahan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu ekstrak. Pemisahan ini didasarkan atas sifat adsorpsi dan partisi dari senyawa yang dipisahkan terhadap larutan yang digunakan. Pada umumnya bioaktif dapat diperoleh dengan cara ekstraksi, fraksinasi dan pemisahan secara kromatografi⁽¹⁵⁾.

Ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat kedalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar permukaan sel, kemudian berdifusi masuk ke pelarut.

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam larutan di dalam wadah tertutup dan terlindungi dari cahaya matahari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut dan karena adanya

konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan terdesak keluar. Peristiwa ini terus berulang hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Perendaman dilakukan berulang kali sampai larutan jernih atau tidak menampakkan noda lagi bila dianalisis dengan kromatografi lapis tipis⁽¹⁵⁾.

II.5 Antibiotik

Sejak tahun 1935, sejumlah besar agen kemoterapeutik telah dikembangkan. Banyak dari senyawa ini dibuat secara sintesis, sedangkan yang lainnya terjadi sebagai hasil sampingan kegiatan metabolisme bakteri, fungi, kelompok terauperik umumnya yang dikenal dengan nama antibiotik⁽¹⁶⁾.

Antibiotik adalah suatu substansi kimia yang diperoleh dari atau dibentuk oleh berbagai spesies organisme yang dalam konsentrasi rendah maupun tinggi mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Antibiotika tersebar dan memegang peranan yang penting dalam mengatur populasi mikroba dalam tanah, air, limbah dan kompos⁽¹⁷⁾.

Zat-zat antibakteri dibagi dalam dua kelompok berdasarkan jenis daya kerjanya terhadap bakteri⁽¹⁸⁾:

- a. Obat-obat bakteriostatik yaitu obat-obat yang dalam konsentrasi yang dapat diterima oleh tubuh hanya menghambat pertumbuhan kuman misalnya kloramfenikol, sulfonamide, tetrasiklin dan lain-lain.

- b. Obat-obat bakterisidal yaitu obat-obat yang dapat membunuh kuman karena daya kerjanya yang cepat mematikan kuman misalnya penicillin, setatospirin dan lain-lain.

Suatu antibiotik yang ideal mempunyai sifat-sifat antara lain ⁽¹⁴⁾:

- Mampu menghambat atau membunuh pathogen tanpa merusak inangnya.
- Bersifat bakterisida dan bukan bakteristatik
- Tidak menyebabkan resistensi kuman dan mempunyai daya kerja yang berspektrum luas.
- Tidak bersifat alergik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam jangka waktu yang lama.
- Tetap aktif dalam plasma, cairan badan atau eksudat
- Larut di dalam air serta stabil

II.6 Mekanisme Kerja Antibiotik

Berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap antibakteri maka antibiotik dibagi kedalam lima kelompok besar yaitu ^(16,14):

1. Antibiotika yang menghambat sintesa dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri yang terdiri dari peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Beberapa antibiotik dapat menghambat reaksi transpeptidasi sintesis dinding sel yang mengakibatkan tekanan osmotik didalam sel mikroba lebih tinggi daripada diluar sel, maka kerusakan dinding sel mikroba

akan menyebabkan terjadinya lisis yang merupakan dasar efek bakterisida pada mikroba.

2. Antibiotika yang menghambat metabolisme sel mikroba

Enzim-enzim seringkali dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Penghambatan ini akan menyatu (bergabung) dengan enzim sedemikian rupa sehingga mencegah kombinasi substrat enzim dan reaksi-reaksi katalitik.

3. Antibiotika yang mengganggu atau merusak membran sel mikroba

Membran sel memegang peranan vital dalam segala hal dan merupakan pembatas osmotik bagi bebasnya difusi antara lingkungan luar dan dalam sel. Antibiotika mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel dan merupakan tempat berlangsungnya pematangan dan biosintetik tertentu. Kerusakan dari membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel mikroba yaitu asam nukleat, nukleotida, protein dan lain-lain.

4. Antibiotika yang mengganggu fungsi DNA

Struktur molekul DNA erat kaitannya dengan dua peran utama yaitu replikasi dan transkripsi. Oleh karenanya, setiap zat yang mampu mengganggu struktur "double heliks" DNA tersebut akan mampu mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme mikroba.

5. Antibiotika yang menghambat sintesis protein

II.8 Bakteri Uji

a. *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* (Krieg. N. R., 1984)⁽¹⁹⁾ :

Divisio	: Protophyta
Class	: Shizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriales
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang yang lurus dengan ukuran 1,1-1,5 μm x 2,0-6,0 μm dan bersifat motil dengan flagel peritricus. Bakteri ini memiliki dua tipe metabolisme yaitu dengan respirasi dan fermentasi serta fakultatif anaerobik yang tumbuh optimal pada suhu 37⁰C. Merupakan penghuni flora usus manusia dan hewan berdarah panas yang pada kondisi tidak menguntungkan populasinya dapat meningkat sehingga dapat bersifat patogen. Oksidase negatif dan acetat dapat digunakan sebagai sumber karbon satu-satunya tetapi sitrat tidak dapat digunakan. Pyruvat dihasilkan dengan fermentasi glukosa dan karbohidrat lainnya, yang selanjutnya akan diubah menjadi lacticid, acetat dan asam formic⁽¹⁹⁾. Responnya terhadap benda asing yaitu dengan membentuk antigen O, K dan H sebagai respon terhadap kondisi yang kurang menguntungkan dengan pengembangan kapsul sehingga dapat bersifat virulen dan tidak dapat dinetralisir⁽²⁰⁾.



terhadap benda asing yaitu dengan membentuk antigen O, K dan H sebagai respon terhadap kondisi yang kurang menguntungkan dengan pengembangan kapsul sehingga dapat bersifat virulen dan tidak dapat dinetralsir⁽²⁰⁾.

b. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* (Krieg, N. R., 1984)⁽¹⁹⁾ :

- Divisio : Protophyta
- Class : Schyzomycetes
- Ordo : Eubacteriales
- Familia : Micrococcaceae
- Genus : Staphylococcus
- Spesies : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat dengan diameter 1 μm yang terdapat dalam bentuk tunggal atau berpasangan, tetrad atau berkelompok seperti buah anggur. Bersifat fakultatif anaerobik tetapi dapat tumbuh pada kondisi aerobik. Pertumbuhannya terjadi pada kisaran suhu yang luas yaitu dari 6,5 – 40⁰C dengan suhu optimum dari 30 – 37⁰ C dengan pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 4,2 – 9,3. Bakteri ini memproduksi pigmen yang berwarna kuning sampai orange. Bersifat katalase positif dan membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk pertumbuhannya. *Staphylococcus aureus* hidupnya pada membran mukus manusia dan hewan berdarah panas. Kebanyakan spesies ini bersifat patogen dan mampu memproduksi enterotoksin yang tahan panas, memproduksi

koagulase (penggumpalan plasma), bersifat proteolitik, lipolitik dan betahemolitik⁽¹⁹⁾. Responnya terhadap benda asing yaitu dengan menghasilkan toksin berupa eksotoksin (α , β , S dan Hyalunidase) dan enterotoksin yang pengelompokannya ditentukan oleh reaksi spesifik antigen dan antibodi⁽²⁰⁾.

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

III.1.1 Alat-alat untuk pengambilan sampel

Alat-alat untuk pengambilan sampel terdiri dari :

- Snorkel
- Masker
- Thermos es
- Pisau

III.1.2 Alat-alat untuk mengisolasi senyawa aktif sponge

Alat-alat untuk mengisolasi senyawa aktif sponge terdiri dari :

- | | |
|----------------|---------------------|
| - Blender | - Corong Buchner |
| - Gelas kimia | - Gelas ukur |
| - Corong pisah | - Labu ukur |
| - Stoples | - Rotary Evaporator |
| - Statif | - Pipet tetes |

III.1.3 Alat-alat untuk pengujian mikrobiologis

Alat-alat yang digunakan untuk pengujian mikrobiologis terdiri dari :

- | | |
|-------------|-----------|
| - Oven | - Otoklaf |
| - Inkubator | - Pemanas |

- Ose bulat
- Pipet skala
- Mistar geser
- Cawan petri
- Tabung reaksi
- Spatula

III.2 Bahan

III.2.1 Bahan-bahan untuk mengisolasi senyawa aktif dari sponge

Bahan-bahan yang digunakan untuk mengisolasi senyawa aktif sponge terdiri dari :

- *Haliclona sp*
- Metanol 80%
- n-heksan
- NaHCO₃
- Etanol 80%
- NaOH 10%
- Etil asetat
- HCl 2 N
- Na₂SO₄

III.2.2 Bahan-bahan untuk pengujian mikrobiologis

Bahan-bahan untuk pengujian mikrobiologis terdiri dari :

- Biakan *Escherichia coli*
- TSA (Tryptic Soy Agar)
- NB (Nutrien Broth)
- Biakan *Staphylococcus aureus*
- MH (Maueller Hinton)
- Aquades steril

III.3 Prosedur Kerja

III.3.1 Pengambilan sampel

Sampel berupa sponge diambil dari perairan bagian barat pulau Barrang Lompo, pada kedalaman berkisar 1 – 2 m. Sampel kemudian direndam dalam etanol 80% dan disimpan pada suhu yang 4°C dalam keadaan segar untuk analisa lanjutan.

III.3.2 Ekstraksi sampel

a. Ekstraksi secara maserasi

Sponge dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian dipotong-potong kecil lalu ditimbang sebanyak 250 g berat segar dan diblender hingga halus kemudian dimaserasi sebanyak tiga kali dengan metanol 80% hingga diperoleh filtrat yang jernih. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan sampai volume 25 ml. Ekstrak pekat tersebut sebagian diujikan terhadap bakteri uji.

b. Ekstraksi secara fraksinasi dengan n-heksan

Ekstrak metanol aktif ditambahkan air sebanyak 50 ml air, diekstraksi dengan n-heksan dalam corong pisah sebanyak 3 x 100 ml. Fraksi n-heksan yang diperoleh dikeringkan dengan dinatrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4 anhidrat), lalu dipekatkan sampai volume 25 ml. Selanjutnya hasil fraksi tersebut diujikan kembali ke bakteri uji.

c. Ekstraksi secara fraksinasi dengan Etil asetat

Fraksi air dari pemisahan n-heksan diasamkan dengan asam klorida (HCl) 2 N sampai mencapai pH 2, selanjutnya diekstrak dengan 3 x 100 ml etil asetat dalam corong pisah sehingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat asam. Fraksi airnya

dibasakan dengan NaOH 10% sampai mencapai pH 9 selanjutnya diekstraksi lagi dengan 3 x 100 ml etil asetat. Fraksi etil asetat basa dipekatkan sampai 20 ml dan diujikan terhadap bakteri uji. Fraksi etil asetat asam dinetralkan dengan 3 x 100 ml natrium hidrokarbonat (NaHCO_3) 5% dalam corong pisah sehingga terbentuk fraksi air dan etil asetat netral. Etil asetat netral dipekatkan sampai 20 ml dan diujikan terhadap bakteri uji. Sedangkan fraksi airnya diasamkan dengan HCl 2 N sampai pHnya mencapai 2 kemudian diekstraksi dengan 3 x 100 ml etil asetat dalam corong pisah. Lapisan etil asetat asam dikumpulkan dan dipekatkan sampai volume 20 ml, lalu diujikan kembali ke bakteri uji dengan dosis yang sama.

III.3.4 Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan dalam pengujian mikrobiologi harus disterilkan terlebih dahulu berdasarkan bahan pembuatnya, yaitu; untuk alat-alat yang terbuat dari bahan yang tahan panas seperti kaca (pipet tetes, tabung reaksi, cawan petri dan botol sampel) disterilkan pada Oven dengan suhu $170-180^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam. Sedangkan untuk alat dan bahan yang tidak tahan panas (aquades dan medium) disterilkan di Otoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15-30 menit.

III.3.5 Pembuatan Medium

1. Medium Tryptic Soy Agar (TSA)

Komposisi dalam 1 liter :

Bacto tryptone 15 g

Bacto soytone	5 g
Natrium klorida	5 g
Bacto agar	15 g

Cara membuat :

Semua bahan ditimbang sesuai dengan yang dibutuhkan, lalu dilarutkan dalam aquades steril dalam erlenmeyer steril dan dipanaskan hingga larut. Selanjutnya dengan menggunakan pipet, media dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 6 ml. Selanjutnya tabung ditutup dengan sumbat tabung dan disterilkan didalam otoklaf selama 15-30 menit suhu 121⁰C dengan tekanan 15 psi.

2. Media Nutrien Broth (NB)

Komposisi untuk 1 liter :

Ekstrak beef	3 g
Peptone	5 g

Cara membuat :

Semua bahan ditimbang sesuai kebutuhan dan dimasukkan dalam erlenmeyer lalu dilarutkan dengan aquades. Media dipanaskan hingga semua bahan larut selanjutnya dimasukkan dalam tabung reaksi besar sebanyak 6 ml. Setelah tabung ditutup lalu disterilkan di otoklaf selama 15-30 menit pada suhu 121⁰C dengan tekanan 15 psi.

3. Media Muller Hinton (MH)

komposisi dalam 1 Liter :

Ekstrak beef	3 g
Bacto casamino acida	17,5 g
Starch	1,5 g
Bacto agar	16 g
NaCl	15 g

Cara membuat :

Semua bahan ditimbang sesuai dengan kebutuhan lalu dimasukkan dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades. Media dipanaskan hingga semua bahan larut, selanjutnya dimasukkan dalam cawan petri sebanyak 20 ml dan disterilkan di otoklaf selama 15-30 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi.

III.3.6 Pembuatan suspensi bakteri uji

Isolat bakteri uji yang telah diremajakan pada media TSA, diambil sebanyak satu ose dan diinokulasikan pada media NB. Setelah diinokulasikan selanjutnya diinkubasi selama 1-2 x 24 jam pada suhu 37°C sampai media menjadi keruh.

III.3.7 Uji daya hambat

Sebanyak 0,1 ml bakteri dari media NB diteteskan pada media MH lalu diratakan dengan spatula. "Paper disk" diletakkan pada permukaan media lalu ditetesi dengan ekstrak metanol, fraksi n-heksan, etil asetat asam, etil asetat netral, etil asetat basa dan fraksi air. Cawan petri tersebut diinkubasi selama 1-2 x 24 jam, lalu diamati. Daerah bening di sekeliling "paper disk" yang menunjukkan daerah hambatan pertumbuhan bakteri diukur dengan mistar geser.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. Hasil

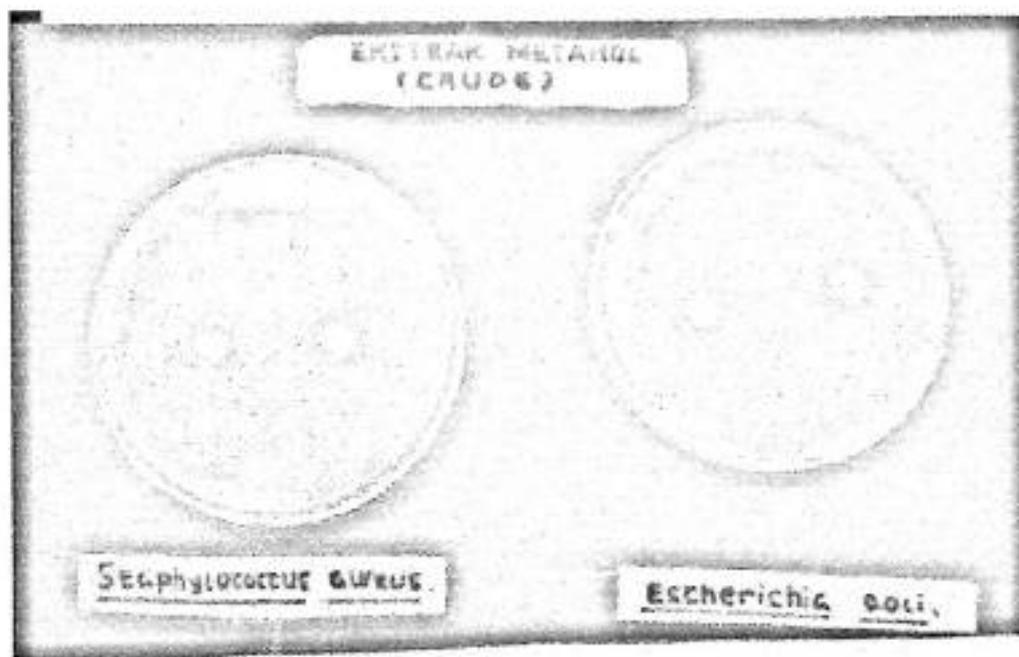
Hasil ekstraksi metanol yang diperoleh secara maserasi diujikan potensi senyawa bioaktifnya ke bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Demikian pula hasil fraksinasi berdasarkan kepolaran dan kelarutan dengan menggunakan n-heksan, etil asetat dan air sebagai pelarut, hingga diperoleh fraksi n-heksan, fraksi etil asetat asam, fraksi etil asetat basa, fraksi etil asetat netral dan fraksi air (lampiran 2). Hasil uji daya hambat hasil ekstraksi secara maserasi dan fraksinasi tersebut disajikan pada Tabel 1 :

Tabel 1. Hasil uji daya hambat berbagai fraksi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

F R A K S I	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	Zona Hambatan (mm)		Zona Hambatan (mm)	
	I	II	I	II
Ekstrak Metanol	13	13	15	15
Fraksi n-heksana	-	-	-	-
Fraksi EtoAc asam	18,75	19,2	17	18,95
Fraksi EtoAc netral	12	12	9,75	9,75
Fraksi EtoAc basa	9,75	9,75	12	10,75
Fraksi Air*	8	8	8	8

Keterangan : * Bakteri tumbuh setelah 2 X 24 jam

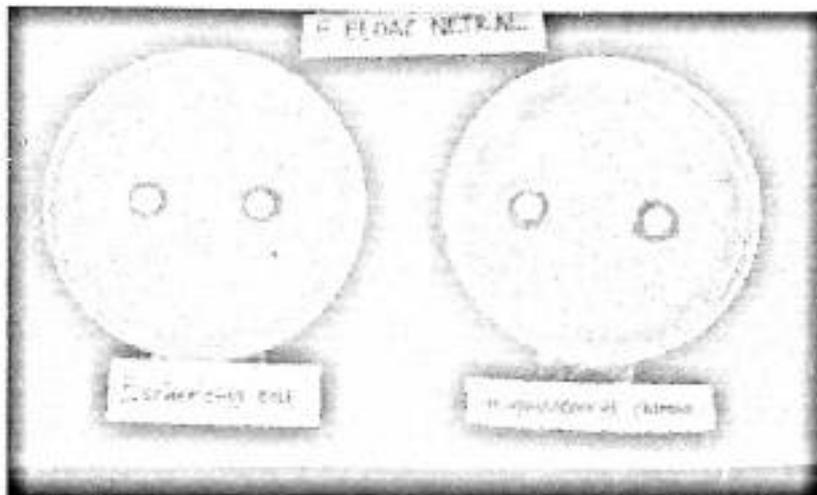
Hasil uji daya hambat ekstrak metanol hasil maserasi sponge *Haliclona sp* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan daerah hambatan masing-masing sebesar 15 dan 13 mm yang diperlihatkan pada Gambar 1 (ekstrak metanol-crude). Hasil ini menunjukkan bahwa sponge *Haliclona sp* mengandung senyawa bioaktif sebagai antibakteri.



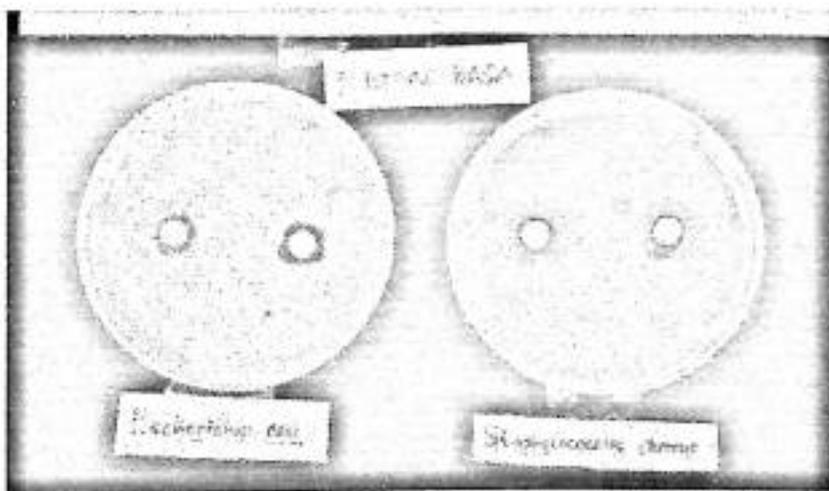
Gambar 1. Hasil uji daya hambat ekstrak Metanol (Crude) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Hasil fraksi etil asetat netral dan fraksi etil asetat basa memperlihatkan adanya daerah hambatan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, yaitu masing-masing sebesar

9,75 dan 12 mm untuk f. EtoAc netral. Untuk f. EtoAc basa rata-rata 10,87 untuk *E. coli* dan 9,75 untuk *S. aureus*, seperti yang diperlihatkan pada Gambar 2 dan Gambar 3 :



Gambar 2. Hasil uji daya hambat Fraksi EtoAc netral terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*



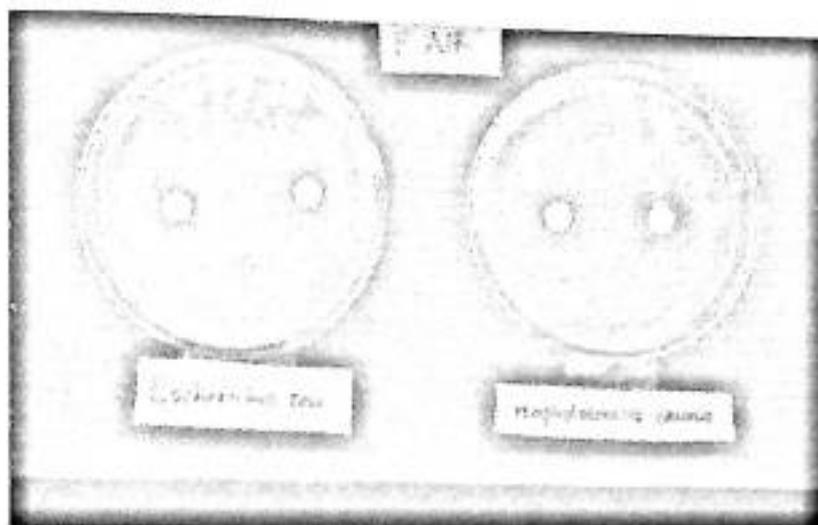
Gambar 3. Hasil uji daya hambat Fraksi EtoAc basa terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Demikian juga dengan fraksi etil asetat asam yang merupakan fraksi yang paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan daya hambat rata-rata sebesar 17,47 dan 18,47 mm, seperti yang dipelihatkan Gambar 5 :



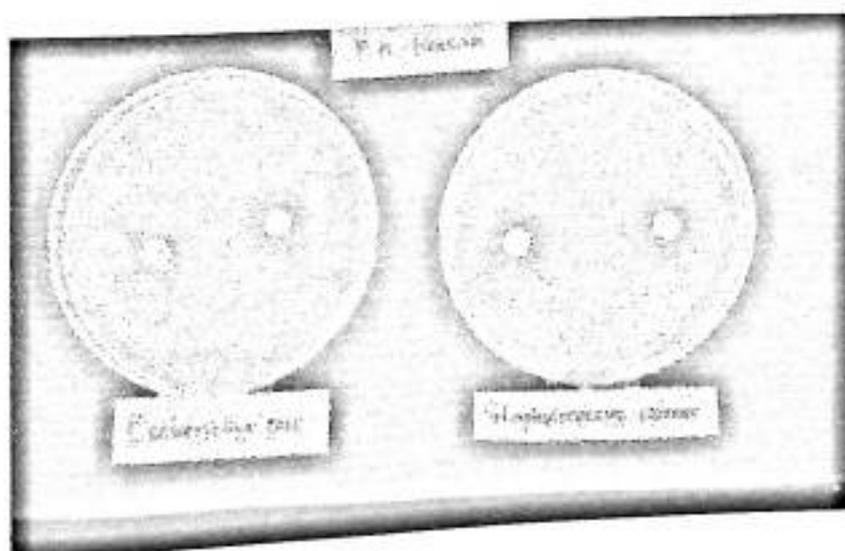
Gambar 4. Hasil uji daya hambat Fraksi EtoAc asam terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Pada fraksi air juga memperlihatkan adanya daya hambat, tetapi sangat kecil yaitu 8 mm. Namun daerah hambatan yang terbentuk ditumbuhi kembali oleh bakteri *E. coli* dan *S. aureus* setelah masa inkubasi 2 X 24 jam, seperti yang diperlihatkan pada Gambar 5:



Gambar 5. Hasil uji daya hambat Fraksi air terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Pada fraksi n-heksan tidak memperlihatkan adanya daya hambat sama sekali terhadap pertumbuhan bakteri uji. Senyawa-senyawa yang larut dalam fraksi ini merupakan senyawa yang non polar, seperti yang diperlihatkan pada Gambar 6 :



Gambar 6. Hasil uji daya hambat Fraksi n-heksana terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Untuk memastikan bahwa daerah hambatan yang terjadi memang disebabkan oleh senyawa bioaktif yang terkandung dalam masing-masing fraksi tersebut dan bukan oleh pelarut, maka dilakukan uji pelarut yang akan digunakan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak ada terbentuk daerah hambatan.

IV.2 Pembahasan

Sponge *Haliclona sp* yang diperoleh dari perairan bagian barat pulau Barrang Lompo menunjukkan populasi yang cukup besar pada kedalaman 1-2 meter. Hal ini dapat disebabkan karena permukaan laut biasanya mengandung banyak unsur organik yang dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi kebanyakan biota laut.

Sampel sponge yang telah diperoleh langsung direndam dengan pelarut etanol dengan maksud untuk menarik kandungan air dari dalam sel dan jaringan sponge *Haliclona sp*. menurut Le Blanck, 1997, kemampuan pelarut etanol untuk menarik kandungan air yaitu sekitar 40%, telah terbukti lebih besar dibandingkan dengan pelarut metanol yang dapat mengikat air sekitar 25%. Sponge direndam dalam larutan etanol 80-90%, dengan tujuan untuk mengawetkan sponge selama perjalanan sehingga dapat mencegah terjadinya proses pembusukan dan dengan demikian zat aktif yang terkandung dalam sponge *Haliclona sp* tetap utuh⁽²¹⁾.

Pada penelitian ini, sampel diekstraksi secara maserasi dengan metanol 80%, karena jenis sponge ini mempunyai struktur tubuh yang lunak sehingga dinding selnya mudah ditembus oleh cairan penyari walaupun tanpa pemanasan.

Berdasarkan hasil uji daya hambat ekstrak metanol terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan daerah hambatan yang relatif kecil yaitu masing-masing sebesar 15 dan 13 mm. Meskipun daerah hambatan yang dihasilkan relatif kecil, namun ekstrak metanol dari sponge *Haliclona* sp mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hal ini didukung oleh data skrining yang telah dilakukan sebelumnya oleh tim FPD (Fall Program Directed Study, 1997), yang mengujikan kandungan antibakteri sponge laut dari kelas Demosphogia dan salah satunya adalah *Haliclona* sp. Daerah hambatan yang relatif kecil tersebut dapat disebabkan karena senyawa bioaktif yang terdapat di dalam sponge *Haliclona* sp dan diduga sebagai senyawa imidazole. Imidazole diketahui selain memiliki efek antibakteri juga memiliki efek antifungi. Menurut Sulistia G., 1995, Imidazole dapat menghambat sintesis ergosterol sehingga permeabilitas sel meningkat. Lebih lanjut dikatakan senyawa tersebut juga dapat mengganggu sintesis asam nukleat atau penimbunan peroksida yang akan menimbulkan kerusakan dan lebih efektif menghambat pertumbuhan jamur⁽¹⁴⁾.

Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh sponge *Haliclona* sp yang menunjukkan adanya efek antimikroba menurut Brusca, 1970, biasanya digunakan sebagai alat pertahanan diri dari infeksi oleh mikroba laut atau oleh predator laut lainnya⁽⁷⁾.

Ekstrak metanol dipisahkan berdasarkan kepolaran dan kelarutannya dengan menggunakan n-heksana, etil asetat dan air sebagai pelarut. Dari hasil yang diperoleh diketahui bahwa fraksi yang menunjukkan adanya daya hambat terhadap

bakteri *E. coli* dan *S. aureus* adalah berturut-turut fraksi etil astat asam, fraksi etil astat basa, fraksi etil astat netral dan fraksi air (bakteriostatik). Sedangkan fraksi n-heksana tidak memperlihatkan adanya daya hambat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kebanyakan senyawa aktif lebih banyak terelusi dengan menggunakan cairan pengelusi yang lebih polar dibandingkan dengan cairan pengelusi yang bersifat kurang polar. Hal ini disebabkan karena senyawa aktif yang ada pada sponge *Haliclona sp* pada umumnya adalah senyawa polar yang mempunyai sifat saling tarik menarik karena adanya perbedaan keelektronegatifan yang pada gilirannya menyebabkan senyawa polar ini reaktif. Senyawa polar inilah yang terekstraksi oleh cairan pengelusi yang bersifat lebih polar. Hal ini diperkuat oleh Minule dan Schuner, 1978, yang bahwa senyawa bioaktif yang berasal dari organisme di laut umumnya bersifat polar⁽²²⁾.

Pada fraksi n-heksana tidak menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri uji, hal ini dapat disebabkan karena tidak ada senyawa kimia dalam fraksi tersebut yang bersifat bioaktif dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, meskipun senyawa tersebut ada, kemungkinan jumlahnya sangat sedikit sehingga konsentrasinya tidak memadai untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Menurut Harborn, 1987 senyawa-senyawa yang larut dalam fraksi ini merupakan senyawa non polar seperti terpenoid, steroid dan karetenoid⁽¹⁵⁾.

Hasil uji daya hambat fraksi EtoAc asam terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* adalah yang paling besar dengan rata-rata daerah hambatan sebesar 17,47 mm untuk *E. coli* dan 18,47 mm untuk *S. aureus*. Ini menunjukkan bahwa

senyawa bioaktif yang paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri uji terlarut dalam fraksi EtoAc asam. Senyawa kimia yang larut dalam etil asetat asam adalah senyawa-senyawa yang bersifat asam seperti asam fenolat, karboksilat, flavonoid, fenil profanoid, antosianin dan turunannya. Salah satu bakterisida yang bersifat asam dan aktif menghambat pertumbuhan bakteri adalah asam fenolat. Nogrady, 1992, mengatakan bahwa senyawa seperti asam fenolat tidak hanya merusak protein sel tetapi juga dapat merusak membran bakteri yang mengakibatkan hilangnya kandungan sitoplasma sel bakteri dengan cepat karena kepolaran gugus hidroksil pada fenol⁽²³⁾.

Pada fraksi EtoAc netral dan fraksi EtoAc basa juga menunjukkan adanya daerah hambatan terhadap bakteri uji, namun tidak sebesar dengan fraksi EtoAc asam. Untuk fraksi EtoAc netral yaitu rata-rata sebesar 9,75 mm untuk *E. coli* dan 12 mm untuk *S. aureus*. Sedangkan untuk Fraksi EtoAc basa rata-rata yaitu sebesar 11,87 mm untuk *E. coli* dan 9,75 untuk *S. aureus*. Adapun senyawa bioaktif yang biasa terlarut dalam etil asetat netral adalah golongan steroid. Sedangkan senyawa-senyawa yang larut dalam etil asetat basa pada umumnya adalah glikosida dan senyawa-senyawa yang mengandung gugus OH.

Untuk fraksi air setelah inkubasi selama 1 x 24 jam menunjukkan adanya daya hambat masing-masing sebesar 8 mm untuk *E. coli* dan *S. aureus*. Namun setelah masa inkubasi 2 x 24 jam terlihat bahwa daerah hambatan yang terbentuk ditumbuhi kembali oleh bakteri uji baik oleh bakteri *E. coli* maupun oleh *S. aureus*. Berdasarkan daya serangnya terhadap bakteri menurut Wattimena, 1987, bahwa

senyawa-senyawa dalam fraksi air tergolong bakteriostatik yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya. Lebih lanjut dikatakan bahwa bakterisida pada umumnya menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel bakteri, menggumpalkan protein bakteri karena perbedaan keasaman, serta hidrolisis dan difusi cairan sel yang disebabkan karena perbedaan tekanan osmosa⁽²⁴⁾.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji daya hambat senyawa bioaktif dari Sponge *Haliclona sp* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, hasil ekstraksi secara maserasi dan fraksinasi berdasarkan kepolaran dan kelarutannya, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

- Ekstrak kasar sponge *Haliclona sp* hasil maserasi dengan metanol dapat menghambat perumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing sebesar 15 dan 13 mm.
- Hasil uji daya hambat dari pemisahan senyawa bioaktif secara fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi Etil asetat asam memiliki daya hambat paling besar yaitu sebesar 17,47 mm untuk *Escherichia coli* dan 18,47 untuk *Staphylococcus aureus*. Disusul oleh fraksi Etil asetat netral dan fraksi Etil asetat basa pada bakteri uji yang sama.
- Fraksi air juga menunjukkan daya hambat terhadap bakteri uji tetapi bersifat bakteriostatik. Sedangkan fraksi n-heksan: tidak memperlihatkan adanya daya hambat untuk semua bakteri uji.

V.2 Saran

Disarankan untuk uji lanjut terutama pemurnian dan identifikasi komponen bioaktif yang terlarut pada Fraksi Etil asetat asam.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nontji, A., 1993, **Laut Nusantara**, Djambatan, Jakarta, (hal 6).
2. Brewery, K., 1997, **Coral Reefs; Mines of Precious Substances**, Pharmaceutical Research Laboratory, <http://CoralReefs.com>, (hal 1).
3. Mckay, 1999, **Marine Sponge : Small Animal with Really Meat Compounds**, The Evergreen State College Olympia, Washington, <http://MarineSponge.com>, (hal 1).
4. Reddy, R., Venkatama, 1995, **CV of Venkatama Rami Reddy**, [http://Dr. John Faulkner Laboratory.com](http://Dr.JohnFaulknerLaboratory.com), (hal 1).
5. Fall Program Directed Study Abstract, 1997, **An Investigation Into The Antibacterial Activity of The Marine Sponge**, [http://Fall Program Directed Study Abstract.com](http://FallProgramDirectedStudyAbstract.com), (hal 8).
6. Villee, A.E., walker, F., Barnes, 1978, **General Zoologi**, W.B. Sanders Company, Toronto, (hal 53).
7. Brusca, C., R., 1970, **Invertebrates**, Sinaeur Associates Inc Publisher, New York, (hal 181).
8. Barnes, R., 1994, **Invertebrate Zoology**, Sixth Edition, Sounders College Publishing, New York, (hal 73).
9. Jasin, M., 1991, **Zoology Invertebrata**, Sinar Wijaya, Surabaya, (hal 91-92).

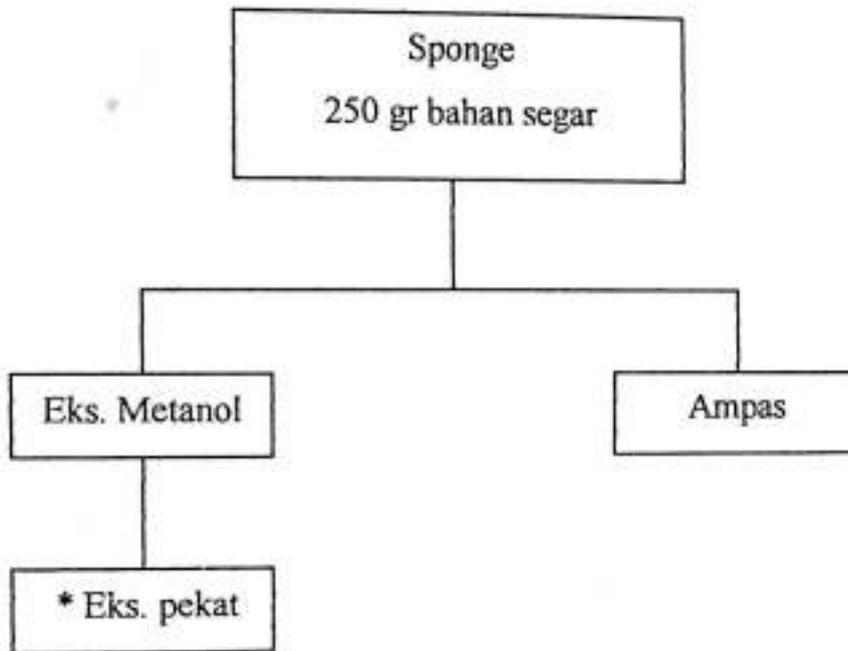
10. Pomponi, S., A., 1994, **Sponge Cell Culture For Production Bioactive Metabolites**, Division of Biomedical Marine Research, Harbor Branch Oceanographic Institution, Fort Pierce, USA, (hal 395).
11. **Introduction of Natural Product Chemistri**, [http//Introduction.com](http://Introduction.com), (hal 1).
12. Faukner, J., D., **Marine Research Division**, Laboratorium Scripps Institution of Oceanography, [http//Marine Research.com](http://Marine Research.com), (hal 2-3).
13. Sammes, D., G., 1984, **Topic in Antibiotic Chemistry Vol. 2**, Ellis Horwood Limited, New York, (hal 49, 137-141).
14. Sulistia, G., 1995, **Farmakologi dan Terapi Edisi IV**, Fakultas UI Kedokteran, Jakarta, (hal 572).
15. Harbone, J., B., 1987, **Metode Fitokimia**, Institute Teknologi Bandung, Bandung, (hal 6-8).
16. Sastrohamidjojo, H., 1985, **Kromatografi**, Librty, Yogyakarta, (hal 17-19).
17. Wheeler, F., M., Volk, A., W., 1988, **Mikrobiologi Dasar Jilid 1**, Erlangga, Jakarta, (hal 23).
18. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran UI, 1987, **Mikrobiologi Kedokteran**, Binadipa Aksara, Jakarta, (hal 48-50).
19. Krieg, N., R., 1984, **Bergey`S Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1**, Baltimore, London, (hal 325-326).
20. Supardi, I., Sukamto, 1999, **Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan**, Alumni, Bandung.

21. Le Blanc, M., 1997, **Papers on Guide The sponge Collection and Identification**, University of British Columbia, Canada.
22. Minale., Schener., 1978, **Produk Alami Lautan dari Segi Kimia dan Biologi**, Academic Press New York, San Fransisco.
23. Nogrady, T., 1992, **Kimia Medisinal**, ITB Press, Bandung.
24. Wattimena, 1995, **Farmakodinami dan Terapi Antibiotika**, Airlangga University Press, Surabaya.

Lampiran 1



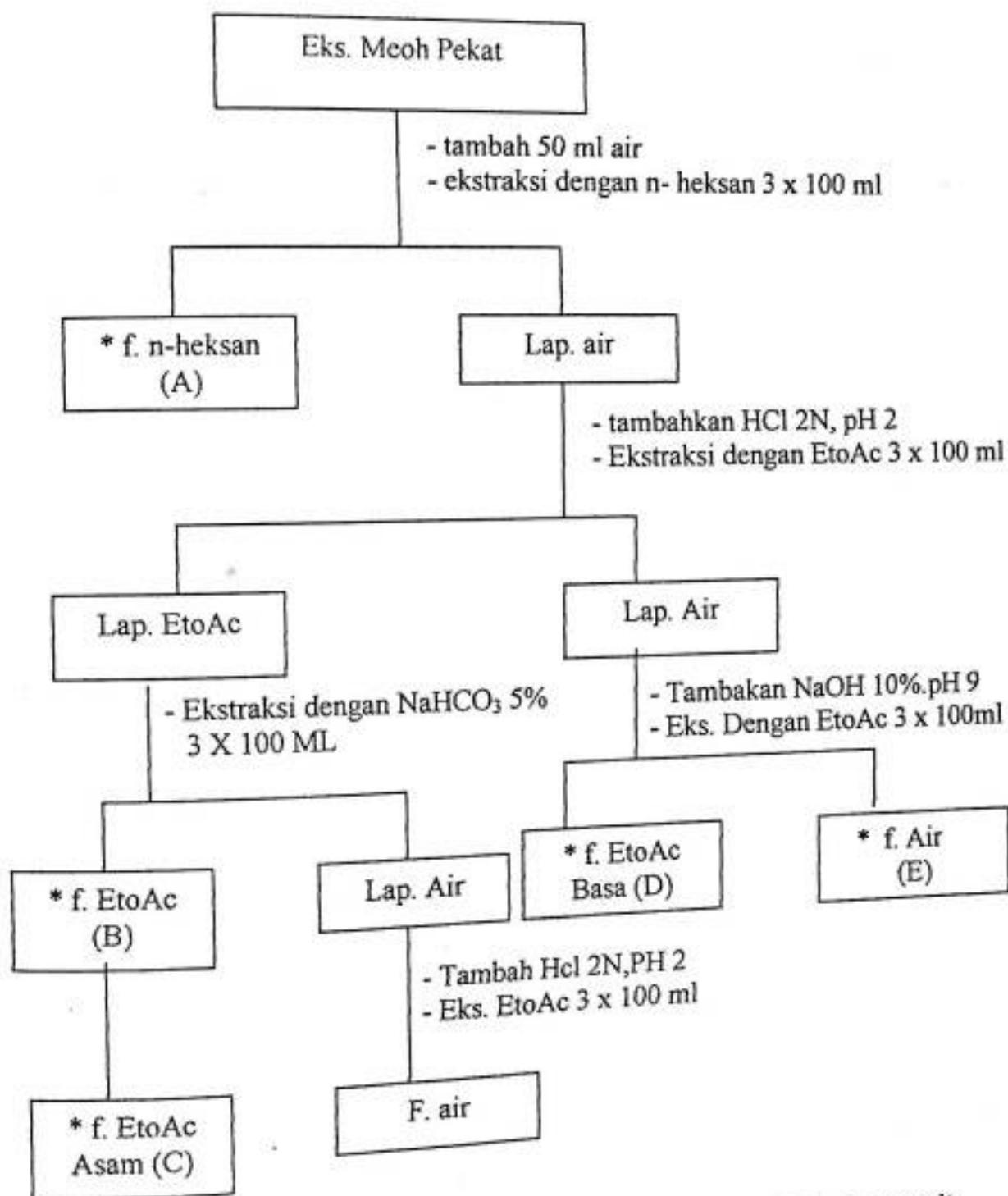
I. Bagan Maserasi



* Uji daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

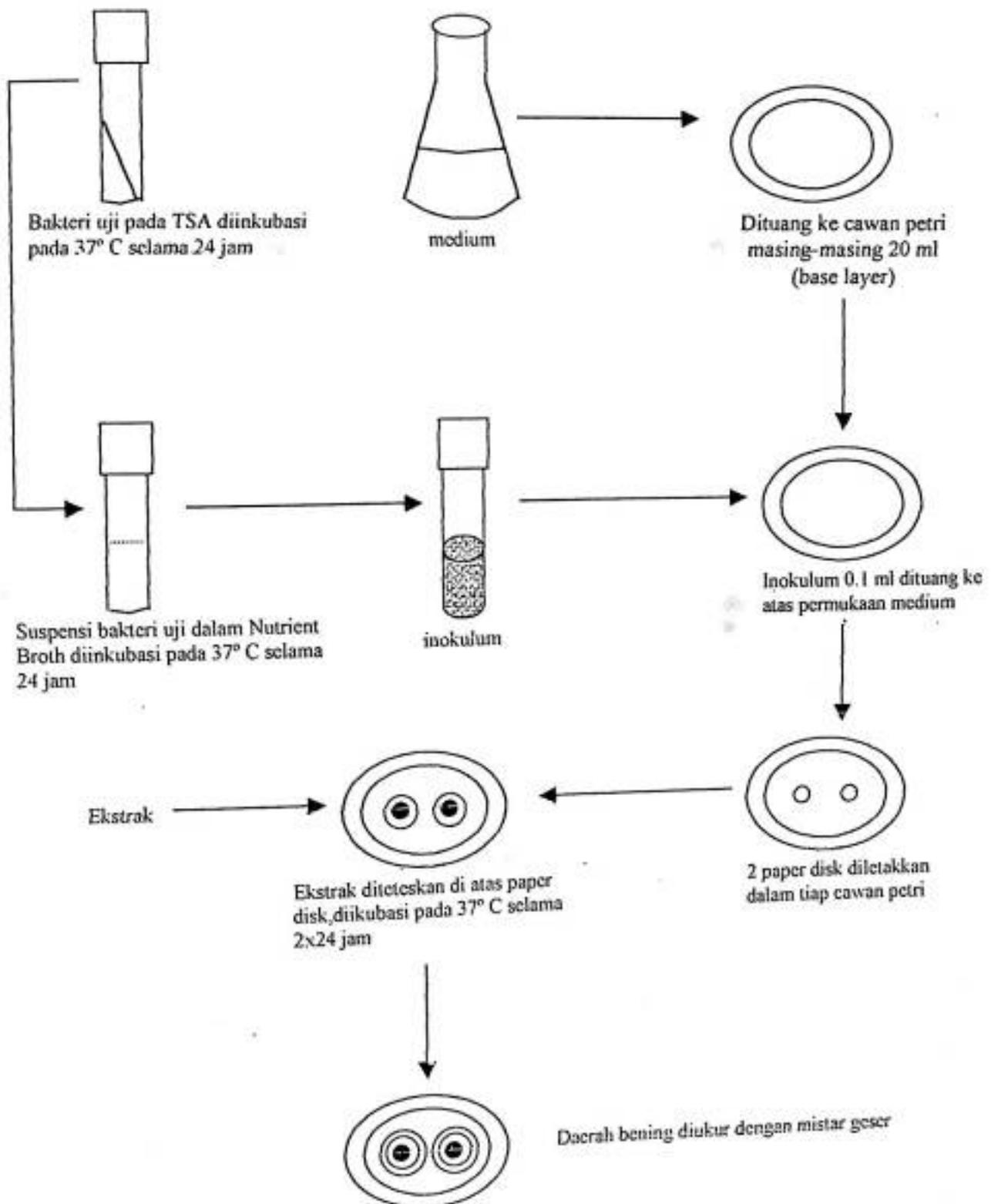
Lampiran 2

II. Bagan Pemisah Fraksi Aktif Secara Bertahap



* Uji daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Lampiran 4. Bagan prosedur uji daya hambat



Lampiran 3. Bagan prosedur uji daya hambat

