

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF
ANTIMIKROBA DARI SPONGS YANG DIKOLEKSI DARI
PERAIRAN PULAU BARRANG LOMPO, MAKASSAR**

*ISOLATION AND IDENTIFICATION ANTIMICROBE ACTIVE
COMPOUND OF SPONGES COLLECTED FROM
BARRANG LOMPO ISLAND, MAKASSAR*

RISFAH YULIANTY



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2005**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIMIKROBA DARI
SPONS YANG DIKOLEKSI DARI PERAIRAN PULAU BARRANG
LOMPO, MAKASSAR**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

F a r m a s i

Disusun dan diajukan oleh

RISFAH YULIANTY

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2005

TESIS

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIMIKROBA DARI
SPONS YANG DIKOLEKSI DARI PERAIRAN
PULAU BARRANG LOMPO, MAKASSAR

Disusun dan diajukan oleh

RISFAH YULIANTY

Nomor Pokok P2500202010

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 8 Juni 2005
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasihat

Drs. Gemini Alam, MSi.

Ketua

Ketua Program Studi
Farmasi,

Dr. Tjiptasurasa

Prof. Dr. Akbar Tahir, MSc

Anggota

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,

Prof.Dr.Ir.H.M. Natsir Nessa, MS

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah, SWT dengan selesainya tesis ini.

Latar belakang dari penelitian ini adalah mengingat Indonesia mempunyai 2/3 wilayah perairan yang merupakan potensi yang besar untuk mendapatkan bahan baku obat selain dari daratan dan masih kurangnya penelitian yang dilakukan bersumber dari laut terutama spons khususnya dari Pulau Barrang Lompo maka penulis merasa terpanggil untuk melakukan penelitian ini.

Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam rangka penyusunan tesis ini, berkat bantuan berbagai pihak, maka tesis ini selesai pada waktunya. Dengan demikian patutlah kiranya jika penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua orang yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung kepada Drs. Gemini Alam, MSi selaku ketua komisi penasehat dan Prof. Dr. Akbar Tahir, MSc selaku anggota komisi penasehat yang banyak meluangkan waktu, tenaga, pikiran, dan arahan mulai dari perencanaan penelitian sampai selesainya penyusunan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada Dr. Tjiptasurasa dan Dr. Elly Wahyudin, DEA selaku ketua dan sekertaris program studi Farmasi Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Selain itu terima kasih juga kepada Prof. Dr. H. Tadjuddin Naid, MSc dan Drs. Abd.

Muzakkir Rewa, MSi selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dalam penyusunan tesis ini.

Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih kepada seluruh staf Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA yang banyak membantu dalam menyediakan fasilitas pelaksanaan penelitian ini.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada ayahanda Drs. H. Fachruddin Tobo dan ibunda Nur Nariman (almarhumah) yang tercinta, serta adikku tersayang Abd. Gafur yang tak henti-hentinya memberikan doa, perhatian, bantuan materi serta dorongan moril, juga kepada suami tercinta Abd. Rahman dan anakda tersayang Nirza atas perhatian dan dukungannya sehingga pendidikan ini dapat diselesaikan.

Terima kasih pula penulis ucapkan kepada sahabatku Rahim yang telah banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini, kepada saudara Kirlan dan Yus sebagai tim penyelam yang telah banyak membantu dalam pengambilan sampel di Pulau Barrang Lompo. Tak lupa pula kepada teman-teman angkatan 2002 atas segala bantuan dan kerjasamanya selama penulis menjalankan pendidikan.

Semoga Allah, SWT senantiasa melimpahkan berkat dan rahmat-Nya. Akhir kata penulis berharap penelitian ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang farmasi.

Makassar, Mei 2005

Risfah Yulianty

ABSTRAK

RISFAH YULIANTY. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Spons yang Dikoleksi dari Perairan Pulau Barrang Lompo, Makassar* (dibimbing oleh Gemini Alam dan Akbar Tahir).

Spons merupakan salah satu invertebrata filum Porifera yang menghasilkan senyawa aktif dengan variasi struktur yang tinggi dan salah satu aktivitas biologinya adalah sebagai antimikroba. Oleh karena itu penelitian, identifikasi, dan pemanfaatan spons diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif antimikroba dari spons asal perairan Pulau Barrang Lompo, Makassar. Mikroba uji yang digunakan adalah *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Bahan uji diperoleh dengan maserasi 14 buah sampel spons dengan metanol yang dilanjutkan dengan partisi berturut-turut menggunakan kloroform dan metanol. Setelah dilakukan uji bioautografi terhadap ekstrak teraktif, senyawa yang menunjukkan aktivitas antimikroba ditentukan golongannya. Nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) ekstrak teraktif ditentukan dengan metode dilusi dan dilanjutkan dengan goresan pada media padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari sampel spons dengan kode BRLP-009 dan BRLP-010 mempunyai aktivitas paling potensial sebagai antimikroba. Isolasi senyawa aktif BRLP-009 dan BRLP-010 terhadap ekstrak metanol diperoleh masing-masing 1 (satu) senyawa aktif. Nilai KHM isolat J-01 (BRLP-009) adalah 10 µg/ml untuk bakteri *E. coli* dan *S. typhi*, sedangkan isolat PS-01 (BRLP-010) memiliki nilai KHM dan KBM terhadap *S. typhi* 500 µg/ml dan *S. aureus* 250 µg/ml. Isolat aktif J-01 merupakan senyawa golongan alkaloid dan isolat aktif PS-01 merupakan senyawa golongan terpenoid. Identifikasi struktur dengan spektrofotometer UV dan IR menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai ikatan rangkap terkonyugasi, gugus NH (amina sekunder), OH, CO, CH₂, CH aromatis dan alifatik.

Kata Kunci : Spons, Barrang Lompo, Antimikroba

ABSTRACT

RISFAH YULIANTY. *Isolation and Identification of Antimicrobial Active Compound of Sponges Collected from Barrang Lompo Island, Makassar* (under the supervision of Gemini Alam dan Akbar Tahir).

Sponge is one of invertebrate belongs to phylum Porifera that produces active compounds with wide variation in structure and one of known pharmacology activity is antimicrobe. Hence the research, discovering, and the use of sponges are needed. The research is intended to isolate and identify antimicrobe active compound from Barrang Lompo Island, Makassar. The test microbes used is *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. The substances tested were obtained by means of maceration of 14 sponge samples with methanol followed by partition using solvents of chloroform and methanol respectively. After bioautographic test toward the most active extract was carried out, the group of compounds those showed antimicrobe activity were determined using dilution method followed by streaky on solid media. The study results showed that methanol extracts from sponges samples with code BRLP-009 dan BRLP-010 had the most potent activity as antimicrobe. Isolation of active compound with methanol extract BRLP-009 and BRLP-010 obtained each 1 (one) active compound. The MIC (Minimum Inhibitory Concentration) value of the isolate J-01 (BRLP-009) was 10 μ g/ml to bacteria *E. coli* and *S. typhi*, while isolate PS-01 (BRLP-010) had MIC and MLC (Minimum Lethality Concentration) value to bacteria *S. aureus* 250 μ g/ml and *S. typhi* 500 μ g/ml. The active isolate J-01 was alkaloid groups and the active isolate PS-01 was terpenoid. Structure identification by UV and IR spectrofotometry showed that the compound of BRLP-009 and BRLP-010 double bond conjugated, they have NH (amine secunder), OH, CO, CH₂, CH aromatic and alifatic groups.

Key words : Sponges, Barrang Lompo, Antimicrobe

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	iii
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Maksud Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Uraian Sampel Spons	5
B. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif	10
C. Mekanisme Kerja Antimikroba	13
BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Waktu dan Tempat	17
B. Bahan dan Alat	17

C. Prosedur Penelitian	18
BAB IV Hasil Penelitian dan Pembahasan	24
A. Pengambilan Sampel	24
B. Penyarian Sampel	24
C. Uji Antimikroba	27
D. Identifikasi Senyawa Aktif	37
BAB V Kesimpulan dan Saran	42
A. Kesimpulan	42
B. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil ekstraksi sampel beberapa spons koleksi Pulau Barrang Lompo	26
Tabel 2. Hasil uji potensi antimikroba dalam skrining pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$	29
Tabel 3. Hasil pengamatan potensi antimikroba ekstrak metanol spons pada berbagai konsentrasi	30
Tabel 4. Hasil identifikasi jenis spons yang memiliki potensi antimikroba yang paling tinggi	31
Tabel 5. Data uji mikrobiologi untuk penentuan harga KHM isolat aktif spons	34
Tabel 6. Data uji mikrobiologi untuk penentuan harga KBM isolat aktif spons	35
Tabel 7. Data uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak metanol BRLPM-009	37
Tabel 8. Data uji kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak metanol BRLPM-010	40

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Data spektra UV senyawa aktif J-01 (BRLP-009)	38
2. Spektra IR senyawa aktif J-01	39
3. Data spektra UV senyawa aktif PS-01 (BRLP-010)	40
4. Spektra IR senyawa aktif PS-01	41
5. Foto Spons Koleksi Pulau Barrang Lompo	50
6. a. Foto Spons Aktif BRLP-009	52
b. Foto Spons Aktif BRLP-010	53
7. Profil kromatogram isolat aktif J -01 (BRLP-009)	54
8. Profil kromatogram isolat aktif PS-01 (BRLP-010)	55
9. Kontrol Positif Bakteri dan Jamur	56
10. Aktifitas antimikroba ekstrak metanol konsentrasi 1000 ?g/ml	57
11. Aktifitas antimikroba ekstrak metanol BRLP-009 konsentrasi 500, 250 dan 100 ?g/ml	58
12. Aktifitas antimikroba ekstrak metanol BRLP-010 konsentrasi 500, 250 dan 100 ?g/ml	59
13. Hasil KLT bioautografi ekstrak MeOH BRLP-010	60
14. Hasil KLT bioautografi ekstrak MeOH BRLP-009	61
15. Hasil KLT bioautografi isolat aktif J-01 (BRLP-009)	62
16. Hasil KLT bioautografi isolat aktif PS-01 (BRLPM-010)	63
17. Hasil Uji KHM isolat aktif J-01 (BRLPM-009)	64
18. Hasil Uji KHM isolat aktif PS-01 (BRLPM-009)	65
19. Hasil Uji KBM isolat aktif J-01 (BRLPM-009)	66
20. Hasil Uji KBM isolat aktif PS-01 (BRLPM-010)	67

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Skema kerja sampel spons BRLP-009	47
2. Skema kerja sampel spons BRLP-010	48
3. Deskripsi fisik sampel spons	49

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Wilayah laut meliputi dua pertiga permukaan bumi, sekitar 25 sampai 30% terumbu karang dunia ada di wilayah Asia Tenggara dan sebagian besar terumbu karangnya terdapat di Indonesia dan Filipina. Terumbu karang di daerah tropis merupakan suatu ekosistem yang khas, mempunyai produktifitas organik yang sangat tinggi termasuk keanekaragaman biota laut yang hidup di dalamnya. Jenis biota laut yang terdapat di terumbu karang tersebut bisa dibandingkan dengan keanekaragaman hayati yang tumbuh di hutan tropis (Supriyono, 2000). Hal ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber penghidupan masyarakat, baik untuk memenuhi kebutuhan pangan, maupun untuk kebutuhan obat-obatan.

Indonesia dikenal sebagai negara bahari dengan luas 70% berupa lautan yang memiliki kekayaan melimpah berupa sumber daya hayati, antara lain ditemukan berbagai jenis spons. Beberapa jenis diantaranya dilaporkan memiliki senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam bidang farmasi (Ahmad dan Suryati, 1996). Sejauh ini telah dihasilkan struktur senyawa bioaktif yang jelas berasal dari 675 spesies spons melalui berbagai penelitian (Higa dan Tanaka, 2001).

Pemanfaatan dan nilai ekonomis hewan spons laut dapat pula diterapkan untuk kemajuan dan pembangunan bangsa Indonesia, salah satu caranya adalah melalui kerjasama antara beberapa ilmuwan dari berbagai bidang seperti taksonomi, ekologi, fisiologi serta biokimia yang saling terkait dan berkaitan. Hal ini penting, karena spons bukanlah hewan yang telah siap pakai untuk mencapai nilai tumbuh tersebut. Hal lain yang juga sama pentingnya adalah bahwa, dalam pencarian senyawa-senyawa kimia baru tersebut bukan berarti untuk mengeksploitasi spons secara tidak bijaksana, tetapi hasil penemuan tersebut akan dipakai sebagai pola atau model untuk membuat senyawa sintetisnya (Amir dan Budiyo,1996).

Sama halnya di udara dan daratan, laut pun dihuni oleh bakteri yang tak terhitung jumlahnya dan banyak bakteri diantaranya bersifat patogen. Berbagai organisme mengembangkan mekanisme tertentu yang ampuh untuk melawan aktivitas bakteri patogen itu. Salah satu mekanisme umum adalah memproduksi senyawa-senyawa kimia yang lazim dikenal dengan senyawa antibiotika (Yulindo, 2003).

Besarnya potensi organisme laut membuat para ilmuwan dan produsen antibiotika dunia melirik laut sebagai sumber antibiotika potensial. Hal ini mungkin dapat menjawab kebutuhan dunia saat ini berupa antibiotika jenis baru karena antibiotika standar yang ada sekarang semakin berkurang efektivitasnya oleh karena, banyak bakteri patogen sudah mulai resisten terhadap antibiotika yang digunakan saat ini. Tingginya kasus infeksi baik yang endemik maupun epidemik serta

penggunaan obat –obat yang terus menerus merupakan faktor-faktor yang diduga sebagai penyebab terjadinya resistensi obat.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian-uraian tersebut, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah spons yang dikoleksi dari Pulau Barrang Lompo memiliki aktivitas antimikroba
2. Apakah senyawa aktif antimikroba dari spons dapat diisolasi
3. Seberapa besar potensi senyawa aktif antimikroba yang telah diisolasi dari spons koleksi Pulau Barrang Lompo

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spons yang memiliki aktivitas antimikroba dan memperoleh senyawa aktif antimikroba yang paling potensial dari beberapa spons koleksi Pulau Barrang Lompo Makassar, dengan cara melakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif berdasarkan data spektroskopi, serta menentukan potensi antimikroba dari senyawa yang telah diisolasi.

D. MANFAAT PENELITIAN

Hasil penelitian ini diharapkan akan menambah informasi sumber bahan baku obat alami berefek antimikroba yang berasal dari laut khususnya dari Perairan Pulau Barrang Lompo Makassar. Selain itu,

senyawa aktif yang diperoleh dari spons dapat dimanfaatkan sebagai senyawa penuntun penemuan obat dari bahan alam laut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. URAIAN SAMPEL SPONS

Sifat-sifat utama yang dapat membantu dalam mengidentifikasi spons adalah dengan melihat bentuk, ukuran, warna, tekstur, produksi lendir dan bau, ornamentasi permukaan, rangka organik dan anorganik, struktur rangka, serat spongin, kerangka mineral, spikula, komposisi kimia, ukuran spikula, fusi spikula, distribusi spikula, bentuk spikula atau geometri, megascleres, microscleres, sitologi, larva dan strategi reproduksi, dan data ekologi (Leblanck,1997).

1. Morfologi Spons

Spons atau Porifera yang berarti berpori (*pore bearer*) termasuk hewan multi sel yang mana fungsi jaringan dan organnya masih sangat sederhana. Hewan ini hidupnya menetap pada suatu habitat pasir, batu-batuan atau juga pada karang-karang mati di dalam laut. Dalam mencari makanan, hewan ini aktif mengisap dan menyaring air yang melalui seluruh permukaan tubuhnya (Anonim, 2004; Amir dan Budiyanto,1996).

Spons, yang banyak dikenal dengan nama bunga karang, merupakan organisme multiseluler yang termasuk dalam phylum Porifera. Porifera merupakan invertebrata paling rendah tingkatannya. Binatang ini belum memiliki susunan otot, daging maupun syaraf dan belum memiliki

saluran pencernaan makanan maupun organ-organ tubuh lainnya. Spons tidak mempunyai organ tubuh dan anggota yang bergerak bebas (Hooper, 1997 ; Astuti *dkk.*, 2003).

Secara umum spons mempunyai karakteristik simetri radial atau tidak beraturan. Sel-selnya tidak sempurna yang tersusun atas jaringan-jaringan dengan mesenkim diantaranya. Tubuhnya terdiri dari dua lapis sel (diploblastik), penuh dengan pori, kanal atau ruangan yang dapat dilalui air mengalir. Umumnya rangka bagian dalam spons tersusun atas zat duri dari kristalin, serabut zat organik tidak teratur atau dari keduanya (Astuti *dkk.*, 2003)

Spons mempunyai perkembangan bentuk yang menarik dan perkembangan bentuk ini dipengaruhi oleh kondisi sekelilingnya seperti aliran air, tekanan, dan kandungan garam. Kadang-kadang suatu spons yang berbentuk tidak teratur dapat berubah menjadi bentuk plastis dan kompleks. Pertumbuhan rata-rata spons dalam diameter per tahun. Warnanya pun dapat bermacam-macam antara lain abu-abu, merah cerah, orange, kuning biru, violet bahkan hitam (Hooper, 1997 ; Astuti *dkk.*, 2003; Smetcher, 2004).

Spons secara khusus berkompetisi untuk menempati dan menyingkirkan predator-predator dengan zat kimia. Spons tidak dapat menggigit, menyengat atau melarikan diri dari predator-predator tetapi spons dapat meracuninya. Banyak spons penghasil bahan kimia, beberapa dari bahan racun ditemukan di alam. Spons dapat melepaskan

bahan kimia secara aktif dalam daerah pertumbuhannya untuk meracuni karang-karang dan binatang lainnya yang cenderung tumbuh melebihi spons. Bahan kimia disimpan dalam selnya dan hanya dikeluarkan pada saat predator menggigitnya (Porter and Target, 1988).

Bahan kimia yang poten secara khusus memberi banyak perlindungan untuk melawan predator, tetapi jika predator memiliki beberapa enzim yang dapat mendetoksifikasi bahan kimia tersebut maka predator memiliki keuntungan untuk mengeksploitasi spons. Spons dibawah tekanan yang selektif menghasilkan racun poten yang banyak, dan predator dibawah tekanan selektif mengembangkan beberapa bahan detoksifikasi racun yang lebih baik. Efek akhir dari spons merupakan kekebalan yang absolut tetapi masih ada predator yang dapat memakannya. Predator tidak dapat memakan apapun karena memiliki keterbatasan produksi detoksifikasi. Kedua spesies ini mendekati batasnya, keduanya hanya memiliki kapasitas metabolik juga untuk menghasilkan racun atau enzim detoksifikasi (Proksch,1994) .

Menurut Kozloff (1990), spons dapat diklasifikasikan berdasar pada pengelompokan secara umum dan komponen rangka yang dimiliki, yaitu:

1. Kelas *Calcarea* atau *Calcispongiae*

Merupakan spons yang hidup didaerah pantai yang dangkal, bentuk tubuhnya sederhana. Spikula spons ini tersusun dari Kalsium Karbonat dan tidak mengandung spongin. Sebagian besar spons dari kelas ini bentuknya kecil-kecil dan berwarna putih keabu-abuan, dan ada beberapa jenis berwarna kuning,

merah jambu atau hijau. Elemen kerangka dari kelas Calcarea berbentuk spikula “triaxon” dan tidak ada perbedaan megasklera dan mikrosklera. Beberapa jenis spons ini adalah *Sycon gelatinosum* (berbentuk silinder berwarna coklat muda), *Clathrina* sp. dan *Leucetta* sp. Spons ini jumlahnya sedikit, lebih kurang hanya 10% dari jumlah semua hewan spons yang ada di laut. Terdiri dari 2 ordo, yaitu ordo *Asconosa* dan ordo *Syconosa*.

2. Kelas Hexactinellida atau Hyalospongiae

Merupakan spons yang hidup di daerah yang dalam dengan ketinggian 50 centimeter bahkan ada yang dapat tumbuh hingga 1 meter. Disebut juga spons gelas. Spikula terdiri dari silikat dan tidak mengandung spongin. Spikulanya berbentuk bidang “triaxon”, dimana masing-masing bidang terdapat dua jari-jari (Hexactinal). Spons dari kelas ini belum banyak dikenal, karena sulit mendapatkan dan hanya terdapat di laut dalam. Contoh spons ini adalah *Euplectella* sp dan *Aspergillum* sp. Terdiri dari 2 ordo, yaitu ordo *Hexastorophora* dan ordo *Amphidiscophora*.

3. Kelas Demospongiae

Hampir 75% jenis spons yang dijumpai di laut adalah dari kelas Demospongiae. Spons dari kelas ini tidak memiliki spikula “triaxon” (spikula kelas Hexactinellidae), tetapi spikulanya berbentuk “monaxon”, “teraxon” yang mengandung silikat. Beberapa jenis spons kelas ini ada yang tidak mengandung

spikula tetapi hanya mengandung serat-serat kolagen atau spongin saja. Contohnya *Cliona* sp. dan *Spongia* sp.

Terdiri atas 8 ordo yaitu ordo *Carnosa*, ordo *Choristida*, ordo *Epipolasida*, ordo *Hadromerida*, ordo *Halicondrina*, ordo *Poeciloclerina*, ordo *Haploscerina*, ordo *Keratosa*.

2. Reproduksi Spons

Pada umumnya hewan spons berkelamin ganda (hermaprodit), tetapi memproduksi sel telur dan sel spermanya pada waktu yang berbeda. Hewan ini dapat juga berkembang biak (reproduksi) secara aseksual (fragmentasi) (Amir dan Budiyanoto, 1996).

Reproduksi seksual terjadi saat sel telur dan sperma dikeluarkan oleh karang ke kolom perairan. Sel telur dan sperma dari jenis yang sama kemudian bergabung menghasilkan larva planula. Planula akan tumbuh sebagai polip karang. Reproduksi aseksual terjadi saat planula tumbuh menjadi polip karang kemudian membelah (Anonim, 2003).

3. Kandungan Kimia

Spons diduga mengandung senyawa peptide, glikosida, saponin, steroid, amina, asam fenolik dan squalen serta turunannya yang dihasilkan dari metabolit sekunder (Amir dan Budiyanoto, 1996).

Berbagai substansi aktif telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari spons Indonesia antara lain barangamide, brianthein, aaptamin, demethyl aaptamin, lembehyne, dan bitungolides (Rachmaniar, 2003). Senyawa-

senyawa lain masih banyak diteliti dan dilaporkan mempunyai aktivitas antimikroba seperti caminoside A dan swinhoeiamide A (Astuti *dkk.*, 2003).

B. ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF

Ragam ekstraksi yang tepat sudah tentu bergantung pada tekstur dan kandungan air/garam bahan alam yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi. Ekstrak yang pekat mungkin mengkristal jika dibiarkan. Bila hal ini terjadi, ekstrak harus disaring dan keseragamannya diuji dengan kromatografi dengan menggunakan beberapa pengembang. Bila kita menelaah profil fitokimia lengkap dari suatu jenis bahan alam, maka sebelum dikromatografi, ekstrak kasar perlu difraksinasi untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya (Harborne,1984).

Pemisahan dan pemurnian kandungan bahan alam terutama dilakukan dengan menggunakan salah satu dari empat teknik kromatografi atau gabungan teknik tersebut. Keempat teknik kromatografi tersebut adalah kromatografi kertas (KKt), kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi gas cair (KGC), dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Harborne,1984).

Pada identifikasi suatu kandungan bahan alam, setelah kandungan itu diisolasi dan dimurnikan, pertama-tama harus kita tentukan dahulu golongannya kemudian barulah ditentukan jenis senyawa dalam golongan

tersebut. Golongan senyawa biasanya dapat ditentukan dengan uji warna, penentuan kelarutan, bilangan R_f , dan ciri spektrum UV. Identifikasi lengkap dalam golongan senyawa bergantung pada pengukuran sifat atau ciri lain, yang kemudian dibandingkan dengan data dalam pustaka. Sifat yang diukur termasuk titik leleh (untuk senyawa padat), titik didih (untuk cairan), putaran optik (untuk senyawa aktif optik), dan R_f atau RR_t (pada kondisi baku). Tetapi data mengenai senyawa bahan alam yang sama ialah ciri spektrumnya termasuk pengukuran spektrum UV, IR, resonansi magnet inti (RMI), dan spektrum massa (SM) (Harborne,1984).

Seperti halnya usaha eksploratif senyawa bioaktif dari tumbuh-tumbuhan, isolasi yang dilakukan terhadap spons pada dasarnya dimulai dengan koleksi dan determinasi bahan/organisme, yang dilanjutkan dengan ekstraksi dan skrining bioaktivitas ekstrak gubal, isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif, skrining farmakologi senyawa murni dan yang terakhir adalah usaha pengembangan ke arah produksi komersial (Wright,1998).

Analisis yang dilakukan terhadap spons *Xestospongia aschmorica* menghasilkan empat senyawa manzamine baru dengan aktivitas antibakteri (Endrada *et al.*,1996). Manzamin A yang sebelumnya banyak diteliti karena potensinya sebagai senyawa antikanker mampu menghambat parasit malaria baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Ang *et al.*,2000).

Senyawa-senyawa ini masih banyak diteliti dan dilaporkan mempunyai aktivitas antimikroba seperti caminoside A, suatu glikolipid yang diisolasi dari spesies *Caminuss phaeoconia*, 1,2-dioxane ring peroxide acid dari familia plakiniidae dan swinhoeiamide A, suatu dekat calyculin dari spons *Theonella swinhoei* yang juga dilaporkan aktif terhadap fungi patogen *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* dengan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) masing-masing 1,2 dan 1,0 μ g/mL (Linnington *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2002). *Callyspongia* sp (Kelas Demospongiae) menurut Nakao *et al.* (2003) *C. truncata* mengandung senyawa poliasetilen asam callysponginat yang mampu menghambat enzim α -glukosidase. Pada *Callyspongia* sp yang diperoleh dari Laut Merah dilaporkan terdapat 6 senyawa poliasetilen baru yaitu aikupikanynes A-F, namun belum diketahui aktivitas farmakologinya (Nakao *et al.*, 2003; Alam *dkk.*, 2003).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Astuti Adnan *dkk* (2003, 2004) terhadap 15 ekstrak spons yang dikoleksi dari Taman Laut Bunaken, Teluk Belita dan Pulau Barrang Lompo dan semua ekstrak dari Taman Laut Bunaken aktif terhadap bakteri *S. aureus*, *S. typhi*, dan *E. coli* serta jamur *C. albicans* pada konsentrasi pemberian 1000 μ g/ml.

C. MEKANISME KERJA ANTIMIKROBA

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia termasuk diantaranya antibiotika, antiseptika, kemoterapeutika, dan pengawet (Djide, 2003).

Antimikroba yang ideal menunjukkan toksisitas selektif, dimana obatnya lebih toksis terhadap mikroorganismenya dibandingkan pada sel hospes. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroorganisme atau karena obat pada reaksi-reaksi biokimia penting dalam sel parasit lebih unggul pengaruhnya terhadap sel hospes. Selain itu, struktur sel mikroorganisme berbeda dengan struktur sel manusia (hospes, inang) (Jawetz *et al.*, 2001).

Mekanisme kerja utama antimikroba : (Ganiswarna,1995)

1. Antimikroba yang menghambat metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, dimana bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA). Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan asam para amino benzoat (PABA) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Untuk dapat bekerja, dihidrofolat harus diubah menjadi bentuk aktifnya yaitu asam tetrahidrofolat. Contoh obat yaitu : sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon.

2. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Dinding sel mikroba secara kimia adalah peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat reaksi pembentukannya atau mengubahnya setelah dinding sel tersebut selesai dibentuk.

Antimikroba ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim seperti enzim transpeptidase yang dapat menimbulkan kerusakan dinding sel yang berakibat sel mengalami lisis. Contohnya : Basitrasin Sefalosporin, Sikloserin, Penisilin, Vankomisin.

3. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel dan mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran sel memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan menghambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, akibatnya mikroba akan mati.

Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel akan rusak. Dalam hal ini antimikroba dapat berinteraksi dengan sterol sitoplasma pada jamur, dan merusak membran sel bakteri Gram negatif. Contohnya : Amfoterisin B, kolistin, Imidasol, Triazol, Polien, Polimiksin.

4. Penghambatan terhadap sintesis protein

Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasikan protein dengan merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi irreversibel komponen-komponen seluler yang vital ini.

Antimikroba mempengaruhi fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terhambat. Dimana dapat berikatan dengan ribosom 30S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam menterjemahkan tanda mRNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Selain itu juga dapat berikatan dengan ribosom 50S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang. Contohnya : Aminoglikosida, Kloramfenikol, Tetrasiklin, Eritromisin, Linkomisin.

5. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Dalam hal ini mempengaruhi metabolisme asam nukleat, seperti berikatan dengan enzim DNA dependen RNA polimerase bakteri,

memblokir helix DNA. Contohnya : Quinolon, Pyrimethamin, rifampisin, sulfonamid, trimethoprim, metotrexat.

Diharapkan pada penelitian ini akan diperoleh senyawa antimikroba baru diantara 14 jenis spons yang digunakan.