**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN KARAKTERISASI SENYAWA**

**FRAKSI SPONS *Lamellodysidea herbacea* YANG**

**DIPEROLEH DARI TELUK MANADO**

**I Made Dwijendra1), Defny Silvia Wewengkang1), Frenly Wehantou1)**

1) Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

**ABSTRACT**

This study was done to determine antibacterial activity and characterization *Lamellodysidea herbacea* fractions obtained from Manado bay. Extraction was done by maceration and fractionation using n-hexane, chloroform and methanol as solvent. Test of antibacterial activity was done using agar diffusion method and characterization of sponge fraction using Mayer reagent, spectrophotometer UV-Vis and FTIR. The result shows that all fractions possess antibacterial activity. N-hexane fraction exhibit inhibitory activity against *Staphylococcus aurous* by 7.53 mm, and *Escherichia coli* by 7.17 mm, chloroform fraction exhibit inhibitory against *Staphylococcus aurous* by 6,70 mm and *Escherichia coli* by 6,50 mm, and methanol fraction exhibit inhibitory against *Staphylococcus aurous* by 6,47 mm, and *Escherichia coli* by 6,27 mm. Mayer test gives red precipitate indicate of alkaloids, supported by UV-Vis absorption wavelength of 271 nm and 281 nm which are caused by group C = O and N-H reinforced. Infra red spectrum shows that hexane fraction contains N-H on uptake 3394,72 cm-1 which characteristic of alkaloids.

Keywords : *Lamellodysidea herbacea*, antibacterial, *Staphylococcus aurous, Escherichia coli*, spectrophotometer UV-Vis, FTIR.

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan karakterisasi gugus fungsi fraksi *Lamellodysidea herbacea*. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, kloroform dan metanol. Pengujian antibakteri mengunakan metode difusi agar dan identifikasi senyawamengunakan uji Mayer, spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Hasil penelitian menunjukkan semua fraksi memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Fraksi n-heksan memiliki daya hambat terhadap *Staphilococus aureus* sebesar 7,53 mm, *Escherchia coli* sebesar 7,17 mm, fraksi kloroform memiliki daya hambat terhadap *Staphilococus aureus*  sebesar 6,70 mm, *Escherchia coli* sebesar 6,50 mm dan fraksi metanol memiliki daya hambat terhadap *Staphilococus aureus*  sebesar 6,47 mm, *Escherchia coli* sebesar 6,27 mm. Uji Mayer memberikan endapan merah menunjukkan adanya senyawa alkaloid, didukung oleh serapan UV-Vis panjang gelombang 271 nm dan 281 nm yang disebabkan oleh gugus C = O dan N-H. Spektrum infra merah menunjukkan bahwa fraksi heksana mengandung gugus N-H yang merupakan karakteristik alkaloid pada serapan 3394,72 cm-1.

Kata kunci **:** *Lamellodysidea herbacea,* antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli,* spektrofotometer UV-Vis, FTIR.

**PENDAHULUAN**

Perkembangan dunia pengobatan yang semakin pesat telah memunculkan beragam jenis obat-obatan baru. Penelitian untuk menemukan sumber metabolit sekunder, yang dapat digunakan untuk berbagai macam jenis bahan obat juga terus dilakukan. Sejak satu dekade terakhir ini, perhatian dunia pengobatan mulai terarah pada organisme laut sebagai sumber daya yang sangat potensial. Penelitian terhadap aktivitas suatu senyawa baik sebagai antibakteri merupakan suatu langkah awal untuk mengetahui kegunaan senyawa tersebut. Adanya senyawa aktif antibakteri dibidang kesehatan merupakan informasi penting untuk penanggulangan suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa organisme laut memiliki potensi yang sangat besar, dalam menghasilkan senyawa-senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan. Beberapa organisme laut yang diketahui dapat menghasilkan senyawa aktif antara lain ialah spons, moluska, bryozoa, tunikata dan lain-lain. Organisme-organisme ini diketahui dapat menghasilkan sejumlah besar produk laut yang bersifat alami, juga mampu menunjukkan keragaman senyawa kimia yang sangat besar (Thakur dan Muller, 2004).

Spons adalah organisme laut yang memiliki potensi cukup besar dalam menghasilkan senyawa aktif. Sejumlah senyawa metabolit pada spons yang mempunyai bioaktivitas telah diisolasi dan diidentifikasi. Senyawa triterpen dan senyawa steroid diisolasi dari spons *Callyspongia sp*. yang toksik terhadap larva udang *Artemia salina* dan sel telur bulubabi (Acta, 2012). Senyawa terpenoid diisolasi dari spon *Axinella carteri* yang memiliki potensi sebagai antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* (Lubis, 2011). Spons *Callyspongia sp*. telah diisolasi sehingga diperoleh senyawa golongan alkaloid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Hanani, 2005). Senyawa β-sitosterol merupakan senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococus aureus* dan *Escherichia coli* sertatoksik terhadap larva udang *Artemia salina* yang diisolasi dari spons *Petrosia alfiani* dari Kepulauan Barrang Lompo (Rahman, 2008).

Pencegahan terhadap serangan infeksi dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Seiring dengan meningkatnya resistensi bakteri di dunia kesehatan, maka perlu adanya penemuan obat baru. Sumber antibakteri baru dapat diperoleh dari senyawa bioaktif yang terkandung dalam organisme laut, salah satunya dari spons.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini merupakan flora normal dalam tubuh manusia, tetapi pada keadaan tertentu dapat berpotensi membahayakan dan menjadi patogen. Bakteri ujinya adalah Escherichia coli dan Staphylococcus aureus yang menyebabkan penyakit yang berkaitan dengan eksotoksin dan produksi enzim yang dihasilkan (Volk WA dan Wheeler MF 1993). Tujuan penelitian ini yaitu untuk menguji aktivitas antibakteri spons *Lamellodysidea herbacea.* dan Menentukan karakteristik golongan senyawa fraksi spons *Lamellodysidea herbacea.*

**METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2014 sampai Agustus 2014 di Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi.

Alat-alat yang digunakan antara lain Erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, timbangan analitik (AND), corong pisah, batang pengaduk, *stirer* (nesco), cawan petri, *paper disc* 6 mm, *rotary evaporator* (Steroglass Strike 300), jarum ose, pinset, inkubator (incucell), autoklaf (alp), mikropipet, jangka sorong, spektrofotometer IR (shimadzhu Prestige 21), dan alat fotografi (Canon D50).

Bahan-bahan yang digunakan antara lain spons *Lamellodysidea herbacea*, bakteri uji *Staphylococcus aureus, Escherichia coli*, akuades, etanol, metanol, kloramfenikol, kloroform, n-heksan, natrium klorida, nutrient agar, pepton, kertas saring, dan beef ekstrak.

Bentuk penelitian ini ialah eksperimen laboratorium yang menguji spons *Lamellodysidea herbacea* sebagai antibakteri.

**Pengambilan Sampel**

Sampel spons diambil dari perairan pantai Malalayang kota Manado menggunakan alat bantu (masker, snorkel dan fins). Sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam kantong plastik, kemudian langsung dibawa ke Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Program Studi Farmasi Fakultas Metematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi. Sampel difoto dan sebagian dari sampel disimpan dalam wadah kaca untuk diawetkan sebagai *voucher* dan diberi label serta nomor sampel, selanjutnya dideterminasi di Fakultas Ilmu Kelautan.

**Pembuatan Ekstrak**

Ekstrak Spons *Lamellodysidea herbacea* dibuat dengan cara maserasi. Sampel sebanyak 120 g dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian direndam dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1:5 (b/v) ditutup dengan *aluminium foil* selama 24 jam. Sampel yang direndam disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 kemudian ditambah dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1:5 (b/v), ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 24 jam, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Debris 2 kemudian ditambah dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1:5 (b/v), ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 24 jam, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 3 dan debris 3. Filtrat 1, 2 dan 3 dicampur menjadi satu kemudian disaring, lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering dan selanjutnya ditimbang mengunakan timbangan analitik (Modifikasi Harborne, 1987). Selanjutnya ekstrak kasar Spons digunakan dalam pengujian antibakteri.

**Pembuatan Fraksinasi**

Ekstrak kasar spons yang diperoleh dimasukkan kedalam corong pemisah, kemudian dilarutkan dengan metanol 80%, dan ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1 : 1 v/v setelah itu dikocok dalam corong pisah sampai homogen. Dibiarkan hingga terbentuk lapisan metanol lapisan n-heksan. Masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering, lalu ditimbang dan hasil inilah yang dinamakan fraksi n-heksan. Selanjutnya lapisan metanol ditambahkan akuades 100 mL kemudian dipartisi dengan pelarut kloroform dengan perbandingan 1 : 1 v/v setelah itu dikocok dalam corong pisah sampai homogen. Dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan metanol dan lapisan kloroform. Masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang dan hasil inilah yang dinamakan fraksi kloroform. Lapisan metanol dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang (Modifikasi Harborne, 1987). Ketiga fraksi yang diperoleh akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

**Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam autoklaf pada suhu 171oC selama ± 15 menit, pinset dibakar dengan pembakaran di atas api langsung dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit (Lay dan Hastowo, 1992).

**Pembuatan Medium cair B1**

Pepton 0,5 g, beef ekstrak 0,3 g, Natrium klorida 0,3 g dan akuades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian disterilkan diautoklaf pada suhu 1210C selama 15 menit, Kemudian didinginkan. Setelah dingin media cair B1 tutup dengan aluminium foil (Ortez, 2005).

**Pembuatan Media Uji B1**

Pepton 0,5 g, beef ekstrak 0,3 g, Natrium klorida 0,3 g, Nutrient Agar 1,5 g dan akuades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian disterilkan diautoklaf pada suhu 1210C selama 15 menit, Kemudian didinginkan sampai suhu 400C. Setelah dingin dipindahkan pada cawan petri (Ortez, 2005).

**Pembuatan Larutan Uji**

Dibuat larutan uji dengan cara ditimbang ekstrak kasar spons sebanyak 25 mg kemudian dilarutkan dalam 5 mL sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250 µg/50 µL. Perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol (Ortez, 2005).

Kontrol positif digunakan obat kloramfenikol 250 mg sedangkan untuk kontrol negatif digunakan metanol.

**Kultur Bakteri**

Bakteri yang akan digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.* Bakteri yang akan dikultur diambil dari lemari pendingin kemudian dipipet sebanyak 100 µL ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi B1 media cair sebanyak 1 mL, kemudian ditutup dengan menggunakan alumunium foil dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 370C selama 24 jam (Ortez, 2005).

**Pengujian Antibakteri**

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Larutan uji ekstrak kasar spons dipipet 50 µL diresapkan pada *paper disc. Paper disc* yang telah diresapkan larutan uji kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri berisi bakteri. Perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 370C selama 24 jam. Setelah itu diobservasi dan diukur diameter dari zona bersih (clear zone) dari masing-masing *paper disc* (Ortez, 2005).

**Karakterisasi Senyawa**

 Fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dilanjutkan dengan identifikasi senyawa mengunakan pereaksi Mayer, spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Skrining fitokimia dilakukan dengan cara f raksi spons *Lamellodysidea herbacea* sebanyak 0,50 g dilarutkan dengan 2 mL etanol lalu hasilnya dibagi menjadi dua bagian yang sama. Untuk bagian pertama digunakan sebagai blanko dan bagian kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer. Hasil uji positif mangandung alkaloid jika terbentuk endapan (Modifikasi Harborne, 1987).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Determinasi Sampel**

Determinasi spons *Lamellodysidea herbacea* dilakukan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Program Studi Ilmu Kelautan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa jenis spons yang diteliti ialah *Lamellodysidea herbacea.* Determinasi dilakukan dengan tujuan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan sampel yang akan digunakan pada uji aktivitas antibakteri.

**Ekstraksi dan Fraksinasi**

 Sampel spons yang diambil dari perairan pantai Malalayang kota Manado, dipotong kecil-kecil. Hal ini bertujuan untuk memperluas permukaan yang berinteraksi dengan pelarut sehingga lebih banyak senyawa yang dapat terekstrak. Sampel yang telah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 120 g dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol selama 24 jam, dan dilakukan pengulangan dengan penggantian pelarut sebanyak tiga kali, bertujuan untuk mengekstrak seluruh senyawa kimia yang ada dalam sampel dan menghasilkan ekstrak encer berwarna biru. Tujuan pemilihan metode maserasi karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, mudah diusahakan, mampu menarik senyawa-senyawa yang berkhasiat, dan untuk menghindari kerusakan zat aktif akibat pemanasan yang berlebih. Pelarut etanol merupakan pelarut yang bersifat selektif, tidak beracun, dan bersifat universal yang cocok untuk mengekstrak semua golongan senyawa metabolit sekunder (Kristanti dkk., 2008).

Ekstrak encer berwarna biru disaring dengan kertas saring, kemudian filtratnya dievaporasi pada suhu 400C, untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kering. Selanjutnya dilarutkan kembali dengan pelarut etanol untuk memisahkan garam dari ekstrak dengan tujuan, agar dalam pengujian antibakteri garam tidak mengganggu penghambatan bakteri, selanjutnya dievaporasi kembali hingga ekstrak kering. Ekstrak kering dikeruk dan ditempatkan dalam wadah tertutup. Hasil penguapan tersebut diperoleh massa total ekstrak kering sebanyak 4,3 g, dari massa awal dengan prosentase zat yang terekstrak sebesar 3,58%. Ekstrak kasar etanol ini digunakan sebagai sampel untuk pengujian antibakteri dan kerja selanjutnya.

Setelah diperoleh ekstrak kering etanol dari hasil maserasi, tahap yang dilakukan selanjutnya adalah fraksinasi dengan menggunakan pelarut organik yang memiliki kepolaran berbeda, yaitu n-heksan dan kloroform. Ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah bertujuan untuk memisahkan senyawa memiliki kepolaran berbeda yang terkandung dalam ekstrak etanol. Kandungan kimia dari suatu sampel hanya dapat terlarut pada pelarut yang sama kepolarannya, sehingga suatu golongan senyawa dapat dipisahkan dari senyawa lainnya (Kochhar dan Rossel 1990). Rendemen ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi spons *Lamellodysidea herbacea*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Pelarut | Berat Ekstrak (g) | Warna | Prosentase (%) |
| 1 | EE | 4,3 | Biru tua | 3,58 |
| 2 | FH | 1,50 | Biru tua | 47,55 |
| 3 | FK | 0,37 | Biru | 11,72 |
| 4 | FM | 1,28 | Kuning kecoklatan | 40,37 |

Keterangan : EE : Ekstrak etanol, FH : Fraksi n-heksan, FK : Fraksi kloroform, FM : Fraksi metanol.

Tahap awal yang dilakukan dalam proses fraksinasi adalah melarutkan 3,17 g ekstrak kering etanol hasil maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Massa total yang terekstrak dari fraksi n-heksan sebesar 1,50 g dari massa awal dengan prosentase zat yang terekstrak pada pelarut n-heksan sebesar 47,55%, sedangkan massa total yang terekstrak dari fraksi kloroform sebesar 0,37 g dari massa awal dengan prosentase zat yang terekstrak sebesar 11,72% dan fraksi metanol diperoleh ekstrak kering yang berwarna kuning kecoklatan sebesar 1,28 g dari massa awal dengan prosentase zat yang terekstrak sebesar 40,37%. Fraksi n- heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol yang diperoleh digunakan sebagai bahan untuk pengujian antibakteri.

**Uji Aktivitas Antibakteri**

Metode yang dipilih pada pengujian aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar *Kirby Bauer*. Dasar pemilihan metode ini adalah karena cepat, mudah dan sederhana dalam pengerjaannya. Sebagai kontrol positif digunakan kertas cakram yang berisi Kloramfenikol 250 μg dalam 50 μL untuk kedua bakteri. Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji, dengan membandingkan diameter daerah hambat yang terbentuk dan kontrol negatif yang digunakan adalah metanol. Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sehingga dapat diketahui bahwa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut.

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penggunaan kedua bakteri tersebut bertujuan untuk mengetahui spektrum dari senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi spons, di mana dikatakan berspektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, berspektrum sempit apabila hanya menghambat pertumbuhan dari salah satu bakteri tersebut (Gram negatif atau Gram positif saja) (Pelezar dan Chan, 1998).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara aseptik. Ekstrak etanol dan masing-masing fraksi spons diresepkan sebanyak 50 μL yang mengandung 250 μg sampel pada *paper disc*. Media uji yang berisi *paper disc* diinkubasi pada suhu 370C selama 24 jam. Setelah diinkubasi muncul daerah bening disekitar *paper disc* yang berbentuk lingkaran. Diameter daerah bening merupakan daerah inhibisi dari ekstrak sampel terhadap mikroba uji. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri masing-masing fraksi dan ekstrak etanol dengan menggunakan metode difusi cakram ditunjukkan pada Gambar 1.

**B**

**4**

**2**

**3**

**1**

**5**

**6**

**A**

**2**

**4**

**1**

**3**

**5**

**6**

Gambar 1. Uji antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi metanol spons *Lamellodysidea herbacea* terhadap *bakteri Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

**1**

Keterangan : A : *Staphylococcus aureus*, B : *Escherichia coli,* 1 : Kontrol negatif, 2 : Kontrol positif, 3 : Ekstrak etanol, 4 : Fraksi n-heksan, 5 : Fraksi Kloroform, 6 : Fraksi metanol

Tabel 2. Hasil rata-rata pengujian ekstrak etanol dan fraksi spons *Lamellodysidea herbacea* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphilococus aureus*.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No. | Sampel | Diameter zona hambat (mm) terhadap bakteri uji |
| *Staphilococus aureus* | *Escherichia coli* |
| 1 | EE | 7,40 | 6,53  |
| 2 | FH |  7,53  | 7,17  |
| 3 | FK |  6,70  | 6,50  |
| 4 | FM |  6,47  | 6,27  |
| 5 | KP | 27,17 | 24,77 |

Keterangan : EE : Ekstrak etanol, FH : Fraksi n-heksan, FK : Fraksi kloroform, FM : Fraksi metanol, KP : Kontrol positif

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri di atas, fraksi n-heksan menunjukkan diameter zona bening paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak yang lainnya. Dengan adanya zona bening yang dihasilkan pada bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif maka hal ini menunjukkan bahwa ekstrak spons dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Hasil yang diperoleh pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa diameter zona bening untuk bakteri *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri Gram positif lebih besar (7,53 mm) bila dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli* yang mewakili bakteri Gram negatif (7,17 mm). Secara umum dinding bakteri Gram negatif berbeda dengan bakteri Gram positif dan hal ini dapat menjelaskan bahwa banyak zat antibakteri yang tidak sensitif terhadap bakteri Gram negatif.

Menurut Davis dan Stout (1971) menyatakan bahwa apabila zona hambat yang terbentuk pada uji difusi agar berukuran kurang dari 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Apabila zona hambat berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, 10-19 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

Diameter zona bening yang ditunjukkan pada ekstrak etanol lebih kecil bila dibandingkan dengan ekstrak fraksi n-heksan. Walaupun pada ekstrak etanol, mengandung senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak daripada fraksi n-heksan. Hal ini mugkin disebabkan karena adanya kerja yang tidak sinergis antara senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol dalam peranannya sebagai antibakteri. Sedangkan pada ekstrak fraksi n-heksan, kemungkinan disebabkan karena adanya kerja yang sinergis antara senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri.

Dari hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan masing-masing fraksi spons, menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etanol dan masing-masing fraksi spons memiliki sifat spektrum luas. Artinya ekstrak tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Pelezar dan Chan, 1998).

**Karakterisasi Senyawa**

**Skrining Fitokimia**

 Dari hasil pengujian antibakteri yang telah dilakukan, Fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea* memiliki aktivitas paling tinggi maka fraksi n-heksan dilanjutkan dengan uji fitokimia, identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan FTIR. Uji fitokimia dengan menggunakan pereaksi Mayer terbentuk endapan berwarna merah yang menandakan fraksi n-heksan positif mengandung alkaloid. Endapan yang terbentuk terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid yang dapat mengganti ion iod dalam pereaksi Mayer (Dewi dkk., 2005).

 N + KHgI4 Hg-N

Alkaloid Reagen Mayer Endapan



Gambar 2. Uji fitokimia fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea*.

**1**

**Spektrofotometer UV-Vis**

Hasil spektrometer UV-Vis senyawa isolat fraksi n-heksan dapat di lihat pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil spektrum UV-Vis Fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea*

Tabel 3. Spektrum UV-Vis fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea.*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | p/v | Wavelength | Abs. |
| 1 |  | 271 | 0,449 |
| 2 |  | 281 | 3,233 |

Hasil analisis spektrofotometri UV-Vis dari fraksi n-heksan memberikan serapan pada panjang gelombang 271 nm, dan 281 nm yang diindikasikan bahwa senyawa tersebut termasuk dalam golongan alkaloid indol. Menurut Nessel dan Febriany (2008), terbentuknya serapan yang berdekatan menunjukkan ciri khas dari senyawa alkaloid indol.

**Spektrofotometer FTIR**

 Spektra FTIR mempunyai sifat fisik dan karakteristik yang khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektra yang berbeda dan sangat kecil kemungkinan dua senyawa mempunyai spektra yang sama (Hayati, 2007). Spektra FTIR dari fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea* dan interpretasinya dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 4.

Gambar 4. Spektra FTIR dari fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea.*

Tabel 4. Interpretasi spektra FTIR dari fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Bilangan Gelombang (cm-1) | Range (cm-1) | Intensitas Referensi | Gugus | Jenis Senyawa |
| 1 | 3394,72 | 3300-3500 | Sangat kuat | N-H | Amina |
| 2 | 2922,16 | 2850-2960 | Sangat kuat | C-H | Alkana |
| 3 | 1737,86 | 1690-1760 | Sangat kuat | C=O | Aldehid,keton,asam karboksilat, ester |
| 4 | 1645,28 | 1640-1680 | Sedang | C=C | Alkena |
| 5 | 1456,26 | 1350-1470 | Sedang  | C-H | Alkana |
| 6 | 1367,53 | 1350-1470 | Sedang  | C-H | Alkana |
| 7 | 1236,37 | 1180-1360 | kuat | C-N | Amina |
| 8 | 1055,06 | 500-3000 | Kuat | O-H | Asam karboksilat |
| 9 | 968,27 | 675-1000 | Sedang  | C-H | Alkena |
| 10 | 727,16  | 675-870 | Kuat  | C-H | Aromatik |

Berdasarkan spektra FTIR fraksi n-heksan pada Tabel 5 dapat dilihat adanya pita serapan yang menunjukkan adanya vibrasi ulur N-H yang melebar pada daerah panjang gelombang 3394,72 cm-1. Vibrasi ulur C-H asimetris dari gugus alkana memberikan serapan pada bilangan gelombang 2922,16, 1456,26 dan 1367,53 cm-1. Pita serapan pada bilangan gelombang 1726,86 cm-1 merupakan akibat dari vibrasi ulur C=O keton alifatik dan aldehid, sedangkan serapan pada bilangan gelombang 1645,28 cm-1 merupakan akibat dari vibrasi tekuk C=C. Vibrasi ulur C-N dalam bidang dari amina memberikan serapan pada bilangan gelombang 1236,37 cm-1. Pita serapan pada bilangan gelombang 1055,06 cm-1 merupakan vibrasi ulur O-H dari asam karboksilat. Pita serapan pada bilangan gelombang 968,27 cm-1 merupakan vibrasi tekuk C-H dari alkkena dan Vibrasi ulur dari C-H dari aromatik bilangan gelombang 727,16 cm-1. Interpretasi spektra FTIR dari fraksi n-heksan berdasarkan hasil pengamatan spektra FTIR dapat diketahui bahwa pada fraksi n- heksan terdapat gugus N-H, C-H, C=O, C-C, C-N dan OH.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, analisis senyawa menngunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR bahwa senyawa hasil isolat diduga merupakan senyawa golongan alkaloid dengan uji fitokimia menggunakan pereaksi Mayer yang memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna merah (Harborne, 1987). Didukung adanya serapan UV-Vis yang memberikan serapan pada panjang gelombang 271 nm dan 281 nm yang diakibatkan oleh gugus C=O dan gugus N-H (Nessel dan Febriany, 2008). Dugaan ini diperkuat spektra FTIR dengan adanya gugus fungsi N-H pada serapan 3394,72 cm-1 yang merupakan ciri khas dari alkaloid (Idrus dkk., 2013).

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak dan fraksi spons *Lamellodysidea herbacea* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus,* dan *Escherichia coli*, dilihat dari zona hambat ekstrak etanol dan masing-masing fraksi spons *Lamellodysidea herbacea* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.*
2. Senyawa hasil isolat diduga merupakan senyawa golongan alkaloid dengan uji fitokimia menggunakan pereaksi Mayer yang memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan berwarna merah. Didukung adanya serapan UV-Vis yang memberikan serapan pada panjang gelombang 271 nm dan 281 nm yang merupakan pola spektrum dari gugus C=O dan gugus N-H. Dugaan ini diperkuat spektra FTIR dengan adanya gugus fungsi N-H pada serapan 3394,72 cm-1 yang merupakan ciri khas dari alkaloid.

**Saran**

1. Perlu dilakukan pengujian berbagai konsentrasi untuk mengetahui konsentrasi efektif, pada fraksi n-heksan spons *Lamellodysidea herbacea* yang aktif sebagai antibakteri.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji khasiat lain dari spons *Lamellodisydea herbacea* untuk mengetahui manfaat secara ilmiah.

**DAFTAR PUSTAKA**

Acta, M. C. 2012. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Bioaktifitas Metabolit Sekunder dari Spons *Callyspongia sp*. *Jurnal Kimia*. 12: 2-7.

Davis dan Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. 22 : 4 - 9.

Dewi, S. M., Suryanti, V. dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi* 3 : 26-31.

Hanani, E. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia Sp* dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Farmasi*. 2: 127 – 133.

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi kedua. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, ITB Press, Bandung.

Hayati, E. K. 2007*. Dasar-Dasar Analisis Spektroskopi*. Universitas Islam Negeri, Malang.

Idrus, B. R., Bialangi, N. dan Alio, L. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Biji Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata Linn*). *Isainstek.* 7 : 6-12

Kochhar, S. P. dan Rossel, S. B. 1990. *Detection, Estimation, and Evaluation of Antioxidant in Food System. Food Antioxidant*. Elsevier Sci Publ Ltd. London, New York.

Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M. dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Unair Press, Surabaya.

Lay, B. W. dan Hastowo, S. 1992. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Edisi I. Raja Grafindo Persada, Jakarta.

Lubis, R. T.2011. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri FraksiNon Polar Spon Laut *Axinella carteri* Terhadap Bakteri *Ralstonia solanacearum* [*Skripsi*].Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.

Nessel dan Febriany, M. 2008. Isolasi Alkaloid Utama dari Tumbuhan Lerchea interrupta Korth*. Jurnal pdii*- *lipi* 11: 13-21

Ortez, J. H. 2005. Disk Diffusion Testing. *In*: *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Marie B. Coyle (*Coord. Ed.*). *American Society for Microbiology*.

Pelczar, M. J. dan Chan, S. 1998*. Dasar-dasar Mikrobilogi 2*. Universitas Indonesia, Jakarta.

Rahman. 2008. Isolasi, Identifikasi dan Uji

Bioaktivitas Metabolit Sekunder Eekstrak Kloroform Spons *Petrosia alfiani* dari Kepulauan Barrang Lompo, *Jurnal Kimia* 3-14.

Thakur, N. L. dan Müller, W. E. G. 2004. Biotechnological potential of marine sponges. *Jurnal Current Science.* 86: 1506-1512.

Volk WA dan Wheeler MF. 1993. Mikrobiologi Dasar. Jilid 1, edisi 5. Erlangga. Jakarta.