

**STUDI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KARANG LUNAK
(*Geodia* sp.) SEGAR TERHADAP BAKTERI *Escherechia*
coli DAN *Vibrio harveyi* SERTA KANDUNGAN SENYAWA
AKTIFNYA**

**SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :
ELOK NING FAIKOH
NIM. 0610830039



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2010**

**STUDI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KARANG LUNAK (*Geodia* sp.)
SEGAR TERHADAP BAKTERI *Escherechia coli* DAN *Vibrio harveyi*
SERTA KANDUNGAN SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana

Oleh:

**ELOK NING FAIKOH
NIM. 0610830039**



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2010

**STUDI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KARANG LUNAK (*Geodia* sp.)
SEGAR TERHADAP BAKTERI *Escherechia coli* DAN *Vibrio harveyi*
SERTA KANDUNGAN SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh:
ELOK NING FAIKOH
NIM. 0610830039

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 1 JULI 2010 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Dosen Penguji I

Ir. Bambang Budi Sasmito, MS
NIP. 19570119 198601 1 001
Tanggal: _____

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal: _____

Dosen Penguji II

Ir. Darius, M.Biotech
NIP. 19500531 198103 1 003
Tanggal: _____

Dosen Pembimbing II

Ir. Yahya, MP
NIP. 19630706 199003 1 003
Tanggal: _____

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal: _____

RINGKASAN

ELOK NING FAIKOH. Studi Daya Antibakteri Ekstrak Karang Lunak (*Geodia* sp.) Segar Terhadap Bakteri *Escherechia coli* Dan *Vibrio harveyi* Serta Kandungan Senyawa Aktifnya (Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Happy Nursyam, MS** dan **Ir. Yahya, MP**)

Sponge merupakan jenis hewan laut yang hidup pada lingkungan terumbu karang. Suharyanto (2008), menambahkan bahwa beberapa jenis sponge diketahui juga memiliki senyawa bioaktif, antara lain: *Hyatella intestinalis*, *Algilus flabellifilus* (Gunasekara *et al.*, 1989), sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi untuk mengobati penyakit pada manusia dan hewan. Penyakit pada manusia dan hewan salah satunya disebabkan oleh bakteri yang memiliki sifat patogen. *E. coli* dan *Vibrio harveyi* merupakan dua contoh bakteri yang menyerang manusia dan hewan. Penelitian yang dilakukan oleh Ahmad *et al.*, (1995) menunjukkan bahwa hasil pengujian bioaktif sponge terhadap bakteri memberikan respon yang sama dengan jenis bakterisida komersial, bahkan dengan dosis yang lebih rendah, yakni: 20-40 ppm, sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Di masa depan, senyawa bioaktif sponge diharapkan dapat menjadi bakterisida baku di bidang perikanan dan dapat diterapkan penggunaannya untuk farmasi maupun di bidang budidaya. Oleh karena itu diperlukan kajian yang lebih mendalam mengenai potensi bioaktif antibakteri yang ada pada sponge.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Biokimia Fakutas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada, Yogyakarta Pada bulan Oktober 2009-Maret 2010.

Tahap pertama penelitian ini digunakan metode eksperimen. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak sponge *Geodia* sp. segar terhadap *Vibrio harveyi* dan *E. coli* dan untuk mengetahui jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada sponge *Geodia* sp. segar. Rancangan penelitian dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Metode analisa data menggunakan Analisis Sidik Ragam (ANOVA). Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat dari hasil uji cakram. Tahap kedua penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Tujuan penelitian tahap dua adalah untuk mengidentifikasi komponen bioaktif yang terkandung dalam sponge *Geodia* sp. segar dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS).

Dari hasil penelitian, ekstrak sponge segar dengan pelarut chloroform memiliki diameter zona hambatan paling tinggi terhadap bakteri *E. coli* dari pada hasil ekstrak sponge segar dengan menggunakan pelarut yang lain. Rata-rata diameter zona penghambat tertinggi adalah 10,56 mm. Hasil analisis GC-MS, diidentifikasi 16 senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada karang lunak *Geodia* sp, 3 yang paling dominan adalah Androst-4-en-3-one sebesar 34,06%, 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine yang memiliki luas area 17,96% dan 4-(2',2'-Dimethyliden-1'-cyclohexyliden) sebesar 8,39%.

Ekstrak karang lunak *Geodia* sp. yang diekstraksi dengan pelarut kloroform terbukti dapat menghambat *E. coli* secara efektif. Sehubungan dengan hal tersebut maka disarankan: Penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri dari *Geodia* sp. dengan pelarut kloroform terhadap bakteri *E. Coli* secara *in vivo*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah swt atas segala rahmat serta hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “Studi Daya Antibakteri Ekstrak Karang Lunak (*Geodia* sp.) Segar Terhadap Bakteri *Escherechia coli* dan *Vibrio harveyi* serta Kandungan Senyawa Aktifnya”, untuk memperoleh gelar sarjana stara 1 pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Skripsi ini diarahkan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kasar dari karang lunak (*Geodia* sp.) segar sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *Vibrio harveyi*. Pokok bahasan dalam penelitian ini meliputi : pengaruh jenis pelarut yang berbeda terhadap diameter zona penghambatan serta analisis senyawa bioaktif antibakteri dari karang lunak dengan metode GCMS.

Segala kekurangan dan dan kealpaan dalam penyusunan skripsi ini adalah semata-mata karena kekhilafan penulis dan kelebihan yang ada hanya dari-Nya. Terima kasih untuk semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya skripsi ini dengan baik, antara lain:

1. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dosen pembimbing pertama atas bimbingan dan kesempatan yang diberikan.
2. Ir. Yahya, MP selaku dosen pembimbing kedua atas arahan yang diberikan.
3. Ir. Bambang Sasmito, MS sebagai dosen penguji pertama atas saran dan masukan yang diberikan.
4. Ir. Darius, M. Biotech sebagai dosen penguji kedua atas saran dan masukan yang diberikan.

5. Sahabat seperjuangan di program studi Teknologi Hasil Perikanan, khususnya angkatan 2006.

6. Semua pihak yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan dan penyelesaian laporan ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Keterbatasan pengetahuan dan kemampuan dari penulis, menjadikan ketidaksempurnaan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun guna perbaikan dalam skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis pribadi maupun bagi pembaca.

Malang, Juli 2010

Penulis



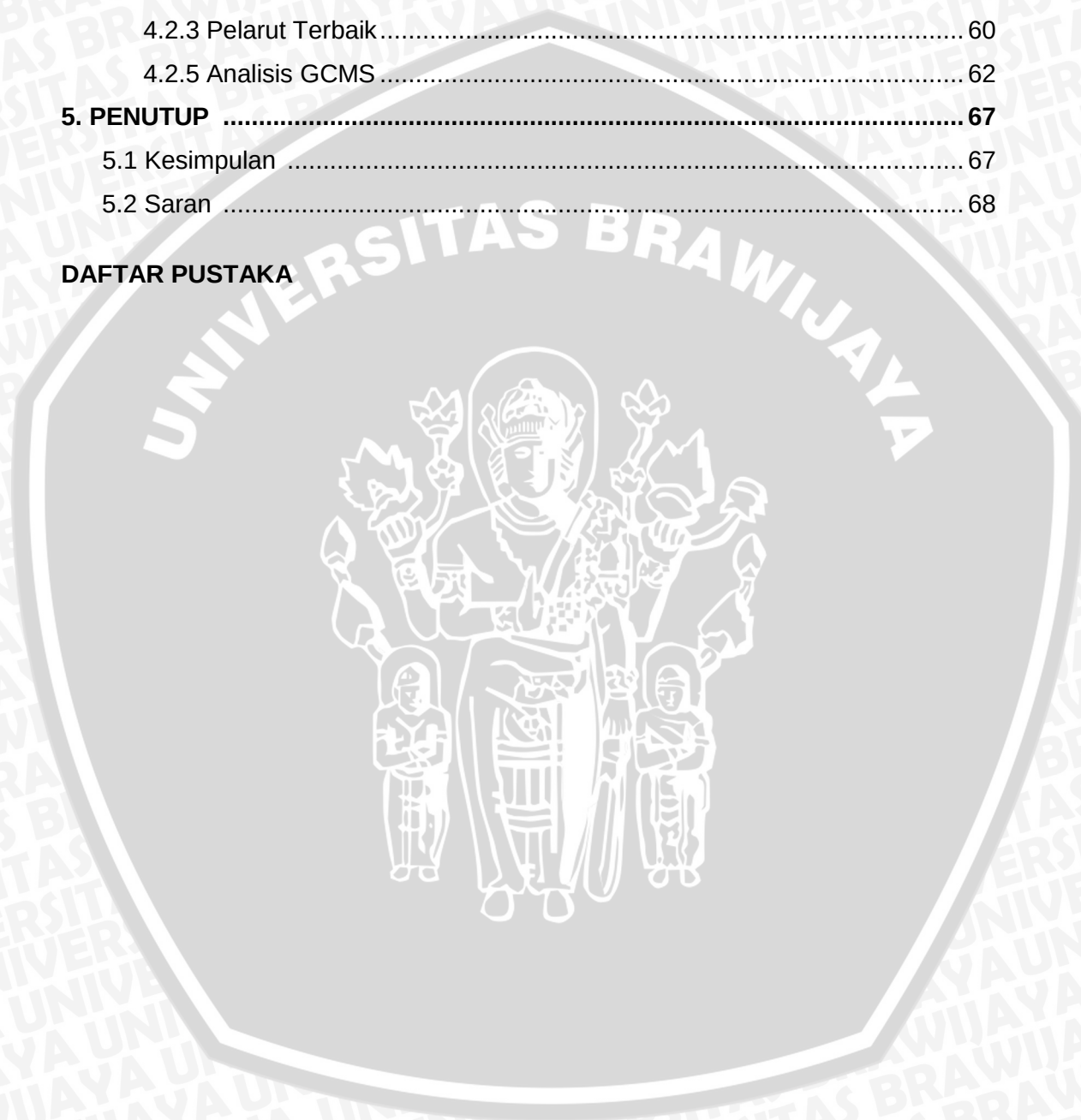
DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
 1. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan Penelitian	5
1.6 Tempat dan Waktu	5
 2. TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Gambaran Umum Sponge	6
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Sponge	6
2.1.2 Sistem Pencernaan	8
2.1.3 Sistem Pernapasan	8
2.1.4 Reproduksi	8
2.1.5 Budidaya Spoge	8
2.2 Klasifikasi Sponge	10
2.3 <i>Geodia</i> sp.	12
2.4 Senyawa Aktif Antibakteri dari Sponge	13
2.5 <i>Echerichia coli</i>	15
2.5.1 Morfologi dan Klasifikasi	15
2.5.2 Metabolisme dan Pertumbuhan	16
2.5.3 Habitat dan Penyebaran	18
2.5.4 Potogenitas	19
2.6 <i>Vibrio harveyi</i>	19
2.6.1 Morfoligi dan Klasifikasi	19

2.6.2 Pertumbuhan dan Metabolisme	21
2.6.3 Habitat dan Penyebaran	22
2.6.4 Patogenitas	22
2.7 Ekstraksi	23
2.8 Pelarut	25
2.8.1 Heksan	28
2.8.2 Kloroform	28
2.8.3 Etanol	29
2.8.4 Metanol	30
2.8.5 Air (Aquades)	31
2.9 Uji Aktivitas Antimikroba	33
2.9.1 Uji Cakram	33
2.9.2 Mekanisme Kerja Antibakteri	34
2.10 GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometri)	36
2.10.1 Prinsip Kromatografi Gas (GC)	37
2.10.2 Spektrometri Massa (MS)	41
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	43
3.1 Materi Penelitian	43
3.1.1 Bahan Penelitian	43
3.1.2 Alat Penelitian	43
3.2 Metode Penelitian	44
3.2.1 Metode Eksperimen	44
3.2.2 Metode Deskriptif	44
3.2.3 Variabel Penelitian	45
3.2.4 Rancangan Percobaan	45
3.3 Prosedur Penelitian	46
3.3.1 Pembuatan Ekstrak Sponge Segar	46
3.3.2 Pembuatan Media	46
3.3.3 Uji Cakram	49
3.3.4 Analisis GC-MS	49
3.4 Skema Kerja Peneliti	51
3.5 Parameter Uji	51
3.6 Analisis Data	52

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	53
4.1 Hasil Pengamatan.....	53
4.2 Pembahasan.....	54
4.2.1 Ekstraksi Sponge Segar	54
4.2.2 Aktivitas Antibakteri	55
4.2.3 Pelarut Terbaik	60
4.2.5 Analisis GCMS	62
5. PENUTUP	67
5.1 Kesimpulan	67
5.2 Saran	68

DAFTAR PUSTAKA



DAFTAR GAMBAR

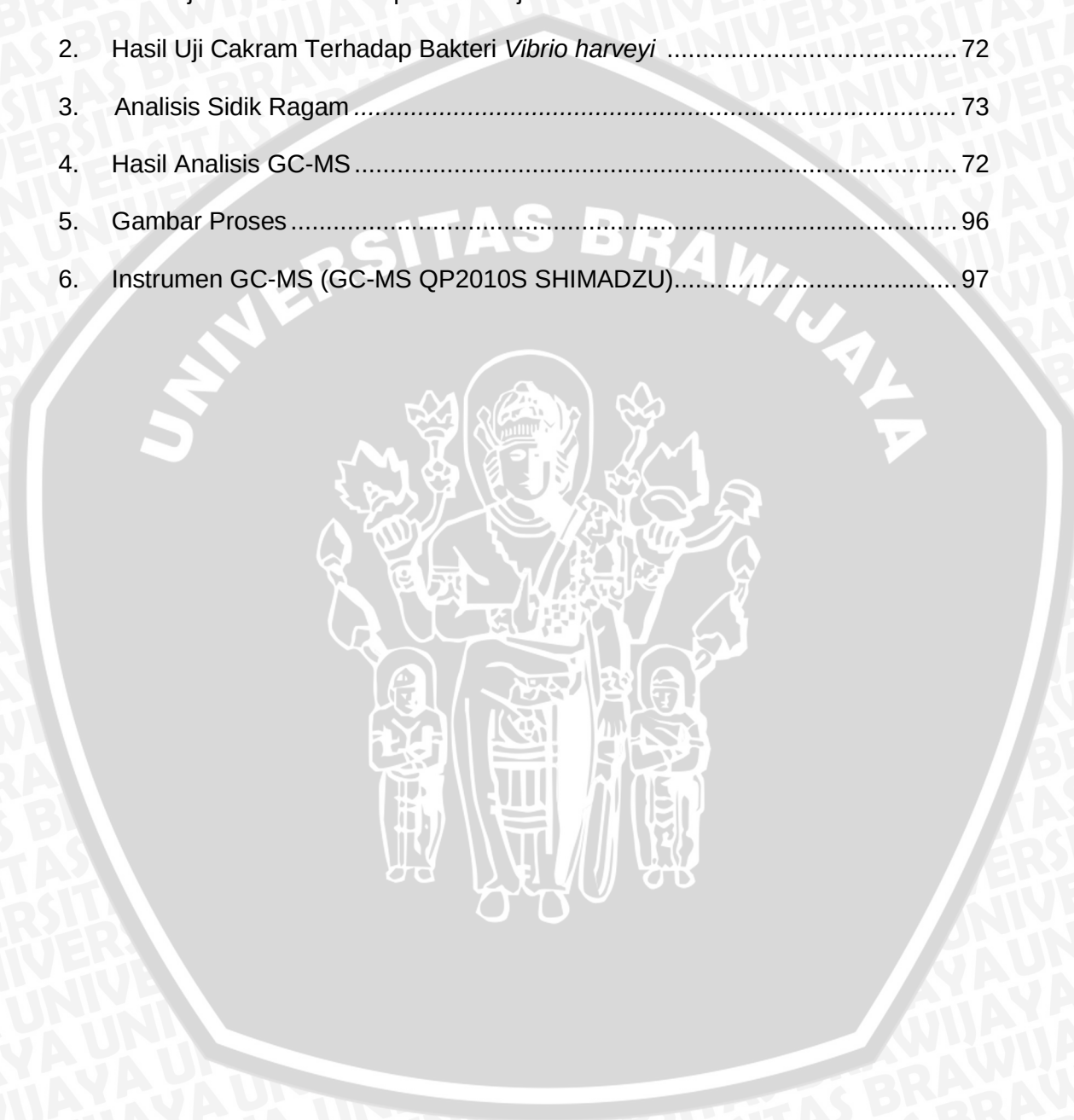
Gambar	Halaman
1. <i>Geodia</i> sp. di habitat aslinya	13
2. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	16
3. Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	20
4. Kromatografi Gas	38
5. <i>Flowchart</i> Pembuatan Ekstrak Sponge Segar	52
6. Hasil Analisis Uji GCMS	54
7. Grafik Kombinasi Jenis Pelarut dengan Diameter Zona Hambat <i>E. coli</i>	55
8. Grafik Kombinasi Jenis Pelarut dengan Diameter Zona Hambat <i>Vibrio harveyi</i> .	57
9. Grafik Kombinasi Jenis Pelarut dengan Diameter Zona Hambat <i>E. coli</i> dan <i>Vibrio harveyi</i>	60
10. Ionosterol	63.
11. Androst-4-en-3-one, 17-hydroxy-, (17 beta-(CAS) testosteron)	64
12 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat-Sifat Pelarut Umum	27
2. Rancangan Penelitian	46
3. Komposisi Medium TCBSA.....	47
4. Komposisi Medium Tryptone Soya Agar	48
5. Diameter Zona Hambatan Ekstrak Sponge Basah terhadap Bakteri Uji <i>E. coli</i> .	53
6. Diameter Zona Hambatan Ekstrak Sponge Basah terhadap Bakteri Uji <i>Vibrio harveyi</i>	53
7. Analisis Sidik Ragam anova Hasil Uji Cakram terhadap <i>E. coli</i>	56
8. Analisis Sidik Ragam anova Hasil Uji Cakram terhadap <i>E. coli</i>	58
9. Daftar Index Polaritas Bahan	61
10.Kandungan Bioaktif dalam <i>Giodea</i> sp Segar.....	62
11. Jenis Steroid	63
12. Jenis-Jenis Terpenoid.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Uji Cakram Terhadap Bakteri Uji <i>E. Coli</i>	71
2. Hasil Uji Cakram Terhadap Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	72
3. Analisis Sidik Ragam	73
4. Hasil Analisis GC-MS	72
5. Gambar Proses	96
6. Instrumen GC-MS (GC-MS QP2010S SHIMADZU).....	97



PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sebagai Negara kepulauan yang besar di dunia yang memiliki wilayah laut sangat luas, dua pertiganya merupakan wilayah laut. Indonesia memiliki sumberdaya alam hayati laut yang besar. Salah satu sumber daya alam tersebut adalah ekosistem terumbu karang. Ekosistem terumbu karang merupakan bagian dari ekosistem laut yang menjadi sumber kehidupan bagi beraneka ragam biota laut. Di dalam ekosistem terumbu karang bisa hidup lebih dari 300 jenis karang, lebih dari 200 jenis ikan dan berpuluh-puluh jenis moluska, krustasea, sponge, algae, lamun dan biota lainnya (Suparno, 2005).

Sponge merupakan jenis hewan laut yang hidup pada lingkungan terumbu karang. Diperkirakan terdapat lebih dari 5000 spesies yang terdapat di alam dan dibagi atas tiga kelas yaitu Calcarea, Demospongia, dan Hexatipellida. Di Indonesia jenis-jenis sponge yang ditemukan 90 % dari Demospongia.

Beberapa peneliti mengungkapkan bahwa dalam sponge terdapat metabolit-metabolit antara lain senyawa terpen (Navi *et al.*, 1974, Minale, 1983), juga terdapat asam lemak (Barrow, 1983). Selain penelitian mengenai kandungan kimianya juga beberapa peneliti telah melakukan uji terhadap bioaktivitasnya misalnya Stempien *et al.* (1947) melakukan uji aktivitas antimikrobia terhadap sponge *Chondrosia* sp. dan Dews (1983) menguji aktivitas antelmintik pada *Haliclona* sp (Satari dan Kadi, 1994).

Suharyanto (2008), menambahkan bahwa beberapa jenis sponge diketahui juga memiliki senyawa bioaktif, antara lain: *Hyatella intestinalis*, *Algilus flabellifilus* (Gunasekara *et al.*, 1989), *Hipospongia comunis*, *Spongia offisinalis*, *Ircina virabilis*, *Spongia oracillis* (Madaio *et al.*, 1989), *Dysidea avara* (Crispino *et al.*, 1989), *Erylus cendevelidi*, dan *Dyctionella insica* (Cimminiello *et al.*, 1989),

sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi untuk mengobati penyakit pada manusia dan hewan.

Penyakit pada manusia dan hewan salah satunya disebabkan oleh bakteri yang memiliki sifat patogen. *E. coli* dan *Vibrio harveyi* merupakan dua contoh bakteri yang menyerang manusia dan hewan. *Escherechia coli* terdapat secara normal dalam alat-alat pencernaan manusia dan hewan. Suatu serotipe tertentu bersifat enteropathogenik dan dikenal sebagai penyebab diare pada bayi. Beberapa galur lainnya juga sebagai penyebab diare pada orang dewasa. Organisme ini berada di dapur dan tempat-tempat persiapan bahan pangan melalui bahan baku dan selanjutnya masuk ke makanan yang telah dimasak melalui tangan, permukaan alat-alat, tempat-tempat masakan dan peralatan lain. Masa inkubasi adalah 1-3 hari dan gejala-gejalanya menyerupai gejala-gejala keracunan bahan pangan yang tercemar oleh *Salmonella* atau disentri (Buckle, *et al.*, 2007).

Sementara itu, *Vibrio* spp Merupakan salah satu bakteri yang biasanya menyerang ikan atau udang. Pada umumnya *vibrio* spp ditemukan di habitat-habitat aquatik, sebagian pada air laut, lingkungan estuaria dan berasosiasi dengan hewan laut. Bakteri ini juga ditemukan pada permukaan dan kandungan intestinal hewan laut. Hidup pada kisaran salinitas yang luas dan beberapa spesies ditemukan di habitat air tawar. *Vibrio harveyi* merupakan penyebab penyakit *vibriosis* yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius pada usaha budidaya ikan atau udang di laut dan air payau. Penularannya dapat melalui air atau kontak langsung dan menyebar sangat cepat sehingga menyebabkan kematian ikan atau udang secara massal.

Penelitian yang dilakukan oleh Ahmad dkk., (1995) menunjukkan bahwa hasil pengujian bioaktif sponge terhadap bakteri memberikan respon yang sama dengan jenis bakterisida komersial, bahkan dengan dosis yang lebih rendah,

yakni: 20-40 ppm, sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakterisida komersial umumnya membutuhkan kadar 100 ppm untuk menghambat pertumbuhan bakteri .

Penggunaan bakterisida alami untuk mengobati penyakit pada manusia dan hewan merupakan suatu cara yang dewasa ini banyak digalakkan. Hal ini disebabkan karena penggunaan bakterisida dari bahan kimia dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten, selain itu juga banyak memiliki dampak negatif baik bagi makhluk hidup maupun lingkungan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang pengobatan yang aman dan berwawasan lingkungan yaitu dengan menggunakan bahan-bahan bioaktif.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk diversifikasi pemanfaatan biota laut yang jenisnya sangat beragam di perairan Indonesia melalui pengetahuan mengenai kandungan kimia dan sifat biokatifya terutama sponge *Geodia* sp. Di masa depan, senyawa bioaktif sponge diharapkan dapat menjadi bakterisida baku di bidang perikanan dan dapat diterapkan penggunaannya untuk bahan pangan maupun di bidang budidaya. Oleh karena itu diperlukan kajian yang lebih mendalam mengenai potensi bioaktif antibakteri yang ada pada sponge.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan studi pustaka spons adalah salah satu biota laut yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh spons laut telah banyak diketahui manfaatnya. Manfaat tersebut antara lain adalah sebagai antibakteri, antijamur, antitumor, antivirus, antifouling dan menghambat aktivitas enzim (Suparno, 2005). Dari uraian tersebut didapat permasalahan sebagai berikut:

- Apakah ekstrak kasar sponge *Geodia* sp segar mempunyai daya antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* dan *E. coli* ?
- Pelarut manakah yang paling efektif digunakan untuk mengekstrak komponen bioaktif pada karang lunak?
- Senyawa-senyawa biokatif apakah yang dominan terkandung dalam ekstrak sponge *Geodia* sp segar?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian yang dilakukan adalah untuk:

- Mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak sponge *Geodia* sp. segar terhadap *Vibrio harveyi* dan *E. coli* .
- Mengetahui jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada sponge *Geodia* sp. segar.
- Mengidentifikasi komponen bioaktif yang terkandung dalam sponge *Geodia* sp. segar dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GCMS).

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

1. Diduga ekstrak sponge *Geodia* sp. segar memiliki daya antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* dan *E. coli*.
2. Diduga komponen bioaktif dari karang lunak dapat diekstrak secara efektif dengan pelarut tertentu.
3. Diduga ekstrak sponge *Geodia* sp. segar dominan mengandung senyawa bioaktif tertentu.

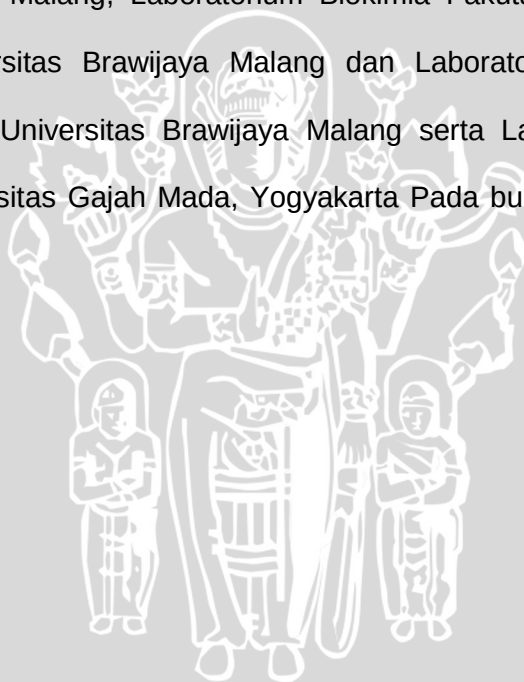
1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

- Memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga, dan institusi lain mengenai manfaat bioaktif yang ada pada sponge.
- Masyarakat dapat memanfaatkan sponge sebagai alternatif bakterisidal alami yang sangat potensial.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Biokimia Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada, Yogyakarta Pada bulan Oktober 2009-Maret 2010.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran Umum Sponge (Karang Lunak)

Sponge merupakan binatang multiseluler (bersel banyak) yang paling primitif. Meskipun tubuhnya sudah tersusun dari banyak sel tetapi jaringan tubuhnya masih sederhana dan belum mempunyai organ tubuh maupun saluran pencernaan makanan dan belum mempunyai sistem syaraf. Bentuk tubuhnya antara lain silindris, pipih, globular, dan seperti vas bunga. Pada tubuhnya terdapat sejumlah rongga yang disebut ostea. Pola pertumbuhan sponge dipengaruhi oleh substrat, kecepatan arus air dan gelombang. Sponge dewasa hidup di daerah pantai dan melekat pada substrat, sedangkan pada waktu masih embrio bersilia dan berenang bebas. Warna tubuhnya kelabu, merah, orange, biru, violet, dan ada pula yang hitam (Wijarni dan Arfiani, 1984).

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Sponge

Morfologi luar spons laut sangat dipengaruhi oleh faktor fisik, kimiawi, dan biologis lingkungannya. Spesimen yang berada di lingkungan yang terbuka dan berombak besar cenderung pendek pertumbuhannya atau juga merambat. Sebaliknya spesimen dari jenis yang sama pada lingkungan yang terlindung atau pada perairan yang lebih dalam dan berarus tenang, pertumbuhannya cenderung tegak dan tinggi. Pada perairan yang lebih dalam spons cenderung memiliki tubuh yang lebih simetris dan lebih besar sebagai akibat dari lingkungan yang lebih stabil apabila dibandingkan dengan jenis yang sama yang hidup pada perairan yang dangkal. Spons dapat berbentuk sederhana seperti tabung dengan dinding tipis, atau masif bentuknya dan agak tidak teratur. Banyak spons juga terdiri dari segumpal jaringan yang tak tentu bentuknya, menempel dan membuat kerak pada batu, cangkang, tonggak, atau tumbuh-tumbuhan.

Kelompok spons lain mempunyai bentuk lebih teratur dan melekat pada dasar perairan melalui sekumpulan spikula. Bentuk-bentuk yang dimiliki spons dapat beragam. Beberapa jenis bercabang seperti pohon, lainnya berbentuk seperti sarung tinju, seperti cawan atau seperti kubah. Ukuran spons juga beragam, mulai dari jenis berukuran sebesar kepala jarum pentul, sampai ke jenis yang ukuran garis tengahnya 0.9 m dan tebalnya 30.5 cm. Jenis-jenis spons tertentu nampak berbulu getar karena spikulanya menyembul keluar dari badannya (Suparno, 2005).

Menurut Wijarni dan Afriani (1984), ciri khusus binatang ini adalah dinding tubuhnya dilengkapi dengan pori-pori dan kanal sistem. Kerangka tubuhnya berupa spikula-spikula atau berupa spogin. Di bagian tengah tubuhnya terdapat rongga sentral yang disebut spongocoel. Daria arah spongocoel ini terdapat lubang keluar yang terletak di bagian ujung atas tubuhnya yang disebut osculum.

Dinding tubuhnya terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan luar disebut epidermis yang disusun oleh sel-sel dermal epithelium, dan lapisan dalam disusun oleh sel-sel choanocyte yang masing-masing dilengkapi dengan flagelum. Di antara kedua lapisan tersebut terdapat zat antara yang berupa gelatin yang disebut mesenchime atau mesoglea. Di dalam mesenchime tersebut terdapat sel amoeboit, yaitu porocyte yang terletak di sekitar pori, scleroblast yang membentuk spikula dan archoocyte yang merupakan sel amoebocyte embrional dan pseopodia yang tumpul dan dapat membentuk sel-sel lainnya seperti sel-sel reproduktif.

Disamping itu, untuk menunjang tubuhnya yang lunak, di dalam mesenchimo terdapat juga kristal-kristal kecil seperti duri atau anyaman benag dari bahan organik antara lain dari calsium carbonat (CaCO_3), silikat ($\text{H}_2\text{Si}_3\text{O}_7$), dan spongin yang mempunyai bentuk monoaxon, triaxon, tetraoxon, dan polyoxon.

2.1.2 Sistem Pencernaan

Makanan binatang ini berupa partikel – partikel sampah halus dan plankton kecil yang terbawa arus air. Butir makanan melekat pada leher choanocyte untuk kemudian ditelan oleh choanocyte yang kemudian dicerna (Wijarni dan Afriani, 1984).

2.1.3 Sistem Pernapasan

Pertukaran gas O_2 dan CO_2 terjadi di mana saja pada jaringan terbuka. Difusi gas-gas terlarut dapat cepat dan efisien karena semua sel berhubungan langsung dengan air atau hanya bergerak beberapa sel saja (Wijarni dan Afriani, 1984).

2.1.4 Reproduksi

Reproduksi dilakukan secara asexual yaitu asexual dengan pembentukan kuncup (budding). Reproduksi secara seksual yaitu dengan cara pertemuan sel telur dan sperma yang zigote (Wijarni dan Afriani, 1984).

2.1.5 Budidaya Sponge

Untuk mengendalikan besarnya laju pengambilan spons laut dari alam dan mencegah tangkap lebih (*overfishing*), terutama untuk pemanfaatan sebagai sumber senyawa bioaktif baru dan memproduksi senyawa bioaktif tertentu, perlu dilakukan upaya pengendalian, terutama yang berhubungan dengan pengembangan budidayanya. Pengembangan budidaya ini diarahkan untuk memproduksi ekstrak kasar dan fraksinya dan untuk penyediaan bibit/anakan untuk restocking pada kawasan terumbu karang yang rusak. Pengembangan budidaya untuk memproduksi ekstrak kasar dan fraksi aktif, dilakukan dengan mencari suatu teknik budidaya yang dapat menghasilkan ekstrak kasar dan fraksi

aktif yang relatif banyak, sedangkan untuk penyediaan bibit/anakan untuk restocking pada kawasan terumbu karang yang rusak, dilakukan dengan mencari suatu teknik budidaya yang dapat memberikan pertumbuhan yang cepat, sintasan yang tinggi dan masa pemulihan siklus reproduksi yang cepat.

Salah satu alternatif dalam mengurangi tekanan pada ekosistem terumbu karang dari pengumpulan organisme yang berasosiasi dalam ekosistem terumbu karang untuk tujuan komersil yaitu dengan cara pengembangan budidaya terhadap berbagai organisme tersebut. Oleh karena itu, usaha pemanfaatan spons melalui usaha budidaya dan kegiatan rehabilitasi dan konservasi terumbu karang harus diarahkan untuk memproduksi benih secara massal melalui usaha transplantasi dan pembenihan. Metode transplantasi dilakukan dengan jalan melakukan fragmentasi pada induk spons menggunakan pisau sedangkan metode pembenihan dengan mengalirkan kejutan listik pada spons dalam akuarium sehingga spons mengeluarkan larvanya (pemijahan buatan) (Suparno, 2005).

Perkembangan budidaya spons tidak hanya sampai di transplantasi baik in situ maupun exsitu. Saat ini telah dikembangkan budidaya spon dengan sistem kultur sel. Beberapa jenis spon yang telah dicoba antara lain *Geodia barrette* (Hoffmann et al., 2003), *Leuconia solida*, *Axinella verrucosa*, *Axinella damicornis*, *Chondrosia eniformis*, *Chondrilla nucula*, *Acanthella acuta*, *Agelas oroides*, *Hemimyscale sp.*, *Dysidea avara* (Nickel et al., 2001), *Petrosia ficiformis* (Nickel et al., 2001; Valisano et al., 2006), *Corticium candelabrum* (de Caralt et al., 2003) *Dysidea avara*, *Suberites domuncula* (De Rosa et al., 2003) *Stylissa massa*, *Suberites domuncula* (Sipkema et al., 2003), *Pseudosuberites aff. andrewsi*, *Geodia cydonium*, *Axinella polypoides*, *Halichondria panicea* dan *Haliclona oculata* (Sipkema et al., 2003), *Xestospongia muta* (Richelle-Maurer et al., 2003).

2.2 Klasifikasi Sponge

Sponge merupakan jenis hewan laut yang hidup pada lingkungan terumbu karang. Diperkirakan terdapat lebih dari 5000 spesies yang terdapat di alam dan dibagi atas tiga kelas yaitu Calcarea, Demospongia, dan Hexatipellida. Di Indonesia jenis-jenis sponge yang ditemukan 90 % dari Demospongia (Satari dan Kadi, 1994).

a. Kelas Calcarea

Adalah kelas spons yang semuanya hidup di laut. Spons ini mempunyai struktur sederhana dibandingkan yang lainnya. Spikulanya terdiri dari kalsium karbonat dalam bentuk *calcikate* (Suparno, 2005). Wijarni dan Diana (1984), menambahkan bahwa penggolongan kelas ini karena adanya spikula (kerangka) yang terdiri dari monoaxon, triaxon, tetraxon, dan polyaxon yang terbuat dari bahan kapur CaCO_3 . Hidup di laut, umumnya terbatas pada daerah pantai yang dangkal, tingginya kurang lebih 10 cm dan umumnya berwarna gelap.

b. Kelas Demospongiae

Adalah kelompok spons yang terdominan di antara Porifera masa kini. Mereka tersebar luas di alam, serta jumlah jenis maupun organismenya sangat banyak. Mereka sering berbentuk masif dan berwarna cerah dengan sistem saluran yang rumit, dihubungkan dengan kamar-kamar bercambuk kecil yang bundar. Spikulanya ada yang terdiri dari silikat dan ada beberapa (Dictyoceratida, Dendroceratida dan Verongida) spikulanya hanya terdiri serat spongin, serat kollagen atau spikulanya tidak ada (Suparno, 2005). Ditambahkan oleh Wijarni dan Diana (1984), kerangkanya terbuat dari bahan campuran. Spikulanya selalu besar dan membentuk monoaxon dan tetraxon. Habitatnya di laut dan air tawar. Jenis tertentu mencapai tinggi beberapa meter.

c. Kelas Hexactinellida

Merupakan spons gelas. Mereka kebanyakan hidup di laut dalam dan tersebar luas. Spikulanya terdiri dari silikat dan tidak mengandung spongin (Suparno, 2005). Ditambahkan oleh Wijarni dan Diana (1984), penggolongan kelas ini spikulanya tidak disusun dari kapur tetapi banyak mengandung silikat. Hidup di laut pada kedalaman 500-1000 m, biasanya di daerah tropis. Pada umumnya tidak membentuk koloni, bentuknya simetri seperti cangkir (jambagan). Tingginya mencapai 10-50 cm dan umumnya berwarna pucat.

Ditinjau dari sistem kanalnya, maka porifera (sponge) dibagi menjadi 3 yaitu: (Wijarni dan Diana, 1984)

a. Tipe Ascon

Dinding tubuhnya tipis dan dilengkapi dengan kanal yang langsung bermuara ke dalam spongocoel yang dindingnya dilengkapi pula dengan sel-sel leher. Pada permukaan asconoid berpori-pori dengan adanya ostea atau lubang air masuk yang dapat terbuka dan tertutup. Ostia berhubungan dengan spongocoel (saluran tengah) dan dari sini air dikeluarkan melalui osculum.

Dinding yang tipis pada tubuhnya terdiri dari satu lapis sel pipih yang disebut *pinacocyte*. Sel ini dapat kembang kempis, sehingga seluruh tubuh sponge dapat berubah ukurannya, besar atau kecil. *Porocyte* adalah sel berbentuk tabung kecil yang menghubungkan ostia dengan spongocoel.

b. Tipe Sycon

Pada prinsipnya tipe ini sama dengan tipe ascon, hanya saja dinding dari spongocoelnya mengadakan pelipatan ke arah epidermis sehingga membentuk kanal-kanal horizontal yang dindingnya dengan sel-sel leher

dan kanal-kanal itu disebut radial kanal. Akibat dari pelelukan dinding tersebut, disamping terbentuknya radial kanal juga terbentuk incurent kanal yang satu sama lain dalam keadaan sejajar. Lubang di mana air masuk dari incurent kanal ke dalam radial kanal disebut prosophyle, sedangkan lubang di mana air masuk dari radial kanal ke dalam spongocoel disebut apophyle. Dari tipe ini yang terkenal adalah sycon dan scypha. Meskipun terjadi lipatan dinding tubuh spon syconoid masih tetap memperlihatkan simetri radial dengan baik.

c. Tipe Leucon

Tipe ini ditandai dengan dinding tubuhnya yang dilengkapi dengan mesenchime yang tebal, di dalamnya terdapat sistem kanal yang bercabang-cabang dan kompleks dan pada suatu tempat sistem kanal tersebut membulat membentuk rongga yang dindingnya dilengkapi dengan sel-sel leher. Keadaan simetri radial hilang dan bentuk tubuh menjadi tidak beraturan. Spongocoel hilang dan tinggal saluran air yang menuju osculum. Sponge leuconoid selalu berbentuk irregular, tetapi dapat mencapai ukuran besar seperti *bath sponge*.

2.3 *Geodia* sp.

Geodia termasuk kelas Demospongia. Kelas Demospongiae adalah kelompok spons yang terdominan di antara Porifera masa kini. Mereka tersebar luas di alam, serta jumlah jenis maupun organismenya sangat banyak. Mereka sering berbentuk masif dan berwarna cerah dengan sistem saluran yang rumit, dihubungkan dengan kamar-kamar bercambuk kecil yang bundar. Spikulanya ada yang terdiri dari silikat dan ada beberapa (Dictyoceratida, Dendroceratida dan Verongida) spikulanya hanya terdiri serat spongin, serat kollagen atau spikulanya tidak ada. Kelas Hexactinellida merupakan spons gelas. Mereka

kebanyakan hidup di laut dalam dan tersebar luas. Spikulanya terdiri dari silikat dan tidak mengandung spongin (Suparno, 2005).



Gambar 1. *Geodia* sp. di habitat aslinya

Menurut Tomascik; *et al*, (1997), klasifikasi *Geodia* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Porifera
Kelas	: Demospongia
Subkelas	: tectactinomorpha
Ordo	: Arthroporida
Famili	: Geodidae
Genus	: <i>Geodia</i>
Spesies	: <i>Geodia</i> sp.

2.4 Senyawa Aktif Antibakteri dari Sponge

Sponge termasuk Porifera beberapa jenis sponge diketahui memiliki senyawa bioaktif, antara lain: *Hyatella intestinalis*, *Algilus flabellifilus*, *Hipospongia comunis*, *Spongia offisinalis*, *Ircina virabilis*, *Spongia oracillis*, *Dysidea avara*, *Erylus cendevelidi*, dan *Dyctionella insica*, sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi untuk mengobati penyakit pada manusia dan hewan. Sponge mampu menyaring bakteri yang ada di sekitarnya, sebanyak 77% bakteri yang tersaring ini dimanfaatkan untuk makanan dan dicerna secara

enzimatis. Senyawa bioaktif yang dimiliki oleh sponge kemungkinan bermanfaat dalam proses pencernaan, sehingga senyawa bioaktif yang diperoleh diperkirakan bervariasi sesuai dengan kebiasaan makan masing-masing jenis sponge. Di perairan Sulawesi Selatan, telah diinventarisasi empat jenis sponge, yaitu: *Halichondria* sp., *Callyspongia* sp., *Callyspongia pseudoreticulata*, dan *Auletta* sp., yang masing-masing memiliki ekstrak senyawa bioaktif bersifat bakterisida. Hasil pengujian terhadap bakteri memberikan respon yang sama dengan jenis bakterisida komersial, bahkan dengan dosis yang lebih rendah, yakni: 20-40 ppm, sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan bakterisida komersial umumnya membutuhkan kadar 100 ppm untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Suharyanto, 2008).

Pembentukan senyawa bioaktif pada spons sangat ditentukan oleh prekursor berupa enzim, nutrisi serta hasil simbiosis dengan biota lain yang mengandung senyawa bioaktif seperti bakteri, kapang dan beberapa jenis dinoflagellata yang dapat memacu pembentukan senyawa bioaktif pada hewan tersebut (Scheuer, 1978 dalam Suryati *et al*, 2000). Senyawa terpenoid dan turunannya pada berbagai jenis invertebrata termasuk spons atau beberapa spesies dinoflagellata dan zooxanthellae yang memiliki senyawa –senyawa yang belum diketahui, yang kemudian diubah melalui biosintesis serta fotosintesis menghasilkan senyawa bioaktif yang spesifik pada hewan tersebut (Suparno, 2005).

Beberapa peneliti mengungkapkan bahwa dalam sponge terdapat metabolit-metabolit antara lain senyawa terpen, juga terdapat asam lemak. Selain penelitian mengenai kandungannya juga beberapa peneliti telah melakukan uji terhadap bioaktivitasnya misalnya Stempien *et al*. (1947) melakukan uji aktifitas anti mikroba terhadap sponge *Chondrosia* sp. dan Daws (1983) menguji aktifitas antitelminik pada *Holiclona* sp. (Satari dan Kadi, 1994).

Senyawa antibakteri telah diisolasi dari spons laut jenis: *Discodermia kiiensis*, *Cliona celata*, *lanthella basta*, *lanthellcr ardis*, *Psammaplysila purpurea*, *.Agelas sceptrum*, *Phakelia .flabellata* (Suparno, 2005).

2.5 *Echerichia coli*

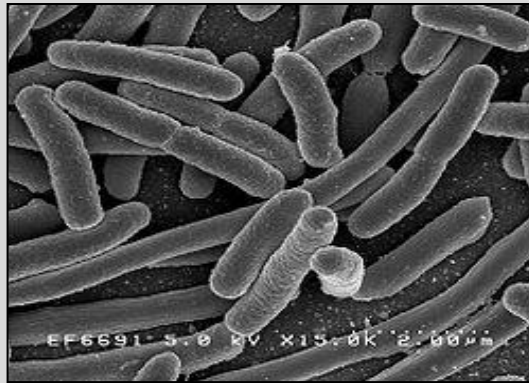
2.5.1 Morfologi dan Klasifikasi

Eschericia coli merupakan contoh jenis bakteri koliform yang berbentuk batang, gram negative, fakultatif anaerob, dan tidak mampu untuk membentuk spora. Seplam pengeluaran cairan dan elektrolit. Terlebih *E. coli* ini yang enfeksi oleh bakteriofage memproduksi sejenis verotoksin yang mirip dengan shigatoksin yang dihasilkan oleh bakteri Shigerti diketahui bakteri *Eschericia coli* merupakan organisme yang normal terdapat dalam usus manusia sehingga keberadaannya bukan merupakan masalah. Namun beberapa strain tertentu dari barkteri ini dapat menimbulkan penyakit seperti diare dan mutaber. Hal ini berkaitan dengan kemampuan strain ini dalam memben tukentorotoksit yang berperan dalam pengeluaran cairan dan elektrosit. Terlebih *E. coli* ini yang infeksi oleh bakteriofage dapat memproduksi sejenis verotoksin yang mirip dengan shigotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *Shigella sp.* (Anonymous, 2007).

E. coli merupakan bakteri batang gram negatif, tidak berkapsul, umumnya mempunyai fibria dan bersifat motile. Bakteri ini mampu meragi laktosa dengan cepat sehingga pada agar Mc. Concey dan EMB membentuk koloni merah muda sampai tua dengan kilat logam yang spesifik, dan permukaan halus. Pertumbuhan pada medium agar "*Leifson Deoxycholate Citrat (LCD)*" terhambat, koloni kecil, ros dan opaq. Pada medium Agar Darah beberapa strain beberapa starain membentuk daerah hemolisis di sekeliling koloni. Sel *E. coli* mempunyai ukuran panjang 2,0-6,0 μm dan lebar 1,1-1,5 μm , tersusun tunggal, berpasangan, dengan flagella peritikus (Supardi dan Sukamto, 1999).

E. coli berdasar klasifikasinya, menurut Brooks, et al. (2001) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Procaryota
Divisio	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Entobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli* (Wikipedia, 2009)

2.5.2 Metabolisme dan Pertumbuhan

Escherichia coli adalah salah satu group koliform yang dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 40°C, bersifat indol positif tidak dapat menggunakan sitrat, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37°C, bersifat merah metil (methyl red) positif, voges-proskauer (VP) negatif.^{16,17} Pada biakan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob dan tumbuh pada pembenihan biasa, misalnya pada biakan cair, agar gizi pembenihan Mac Conkey dan agar darah. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37°C. (Susanty, 2009).

Escherichia coli memproduksi lebih banyak asam di dalam medium glukosa memproduksi indol tetapi tidak memproduksi aseton, bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1:1 dan tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sebaliknya *Enterobacter aerogenes* memproduksi asam lebih sedikit daripada aseton, tetapi tidak membentuk indol. Bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1: 2 dan dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Fardiaz, 1992).

Bakteri ini dapat menggunakan asetat sebagai sumber karbon, tetapi tidak dapat menggunakan sitrat. Glukosa dan beberapa karbohidrat lainnya dipecah menjadi piruvat, dan fermentasi lebih lanjut menghasilkan laktat asetat dan format. Asam format oleh hidrogenliase dipecah menghasilkan CO₂ dan H₂ dalam jumlah yang sama banyaknya. Beberapa strain *E. coli* bersifat aerogenik dan kebanyakan dapat memfermentasi laktosa, hanya beberapa yang tidak mendapat memfermentasi laktosa atau memfermentasi secara lambat. Jumlah guanin dan cytosin (G + C) dari DNANYa adalah 50-51%.

E. coli tumbuh pada suhu antara 10-40°C, dengan suhu optimum 37°C. pH optimum untuk pertumbuhannya adalah pada 7,0-7,5, pH minimum pada 4,0 dan maksimum pada pH 9,0. Nilai a_w minimum untuk pertumbuhan *E. coli* adalah 0,96. bakteri ini relatif sangat sensitif terhadap panas dan dapat dinonaktifkan pada suhu pasteurisasi makanan atau selama pemasakan makanan (Supardi dan Sukanto, 1999).

Menurut Dwijoseputro (1998), bakteri mempunyai lima fase pembiakan yaitu:

- Fase adaptasi adalah fase dimana bakteri selama 1-2 jam setelah pemindahan belum mengadakan pembiakan.
- Fase pembiakan cepat, dimana pembiakan atau pertumbuhan bakteri berlangsung paling cepat.

- c. Fase pembiakan diperlambat, dimana kecepatan pembuakan bakteri mulai berkurang. Pada fase ini tampak sesekali adanya penyusutan jumlah sel-sel yang segar. Hal ini dapat disebabkan karena faktor-faktor lingkungan seperti perubahan pH, keadaan medium yang memburuk atau menimbunnya zat kotoran.
- d. Fase konstan, dimana jumlah bakteri yang merbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati.
- e. Fase kematian, pada fase ini jumlah bakteri yang mati semakin banyak dan makin melebihi jumlah bakteri yang membelah diri.

2.5.3 Habitat dan Penyebaran

E. coli umumnya merupakan flora normal saluran pencernaan manusia dan hewan. Sejak 1940 di Amerika Serikat telah ditemukan strain-strain *E. coli* yang tidak merupakan flora normal saluran pencernaan. Starin tersebut dapat menyebabkan diare pada bayi. Serotipe dari *E.coli* yang dapat menyebabkan diare pada manusia disebut *E. coli enteropatogenik*. Hidup aerobik / fakultatif anaerobik (Supardi dan Sukamto, 1999).

E. coli dalam jumlah yang banyak keluar bersama-sama tinja, akan mencemari lingkungan. *E. coli* thermotoleran adalah strain *E. coli* yang telah dapat hidup pada suhu biakan 44,5°C dan merupakan indikator pencemaran air dan makanan oleh tinja. Beberapa makanan bisa dinyatakan aman untuk dikonsumsi, jika makanan tersebut diproses dengan proses dekontaminasi yang terkontrol dengan baik seperti pasteurisasi dan sterilisasi, seperti susu sterilisasi atau pasteurisasi. Proses dekontimasi air kemasan dilakukan dengan klorinasi dan filtrasi. Makanan lain seperti roti, tepung, jam, madu, pikel, manisan buah termasuk makanan yang dinyatakan aman. karena komposisi dan proses pengolahan makanan tersebut menyebabkan kondisi yang tidak mendukung

pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa sifat makanan dan bahan pangan, seperti pH kurang dari 4,5, kadar air rendah ($a_w < 0.86$) atau kadar gula atau kadar garam yang tinggi (Siagian, 2002).

2.5.4 Patogenitas

Eschericia coli merupakan contoh jenis bakteri koliform yang berbentuk batang, gram negative, fakultatif anaerob, dan tidak mampu untuk membentuk spora. Seplam pengeluaran cairan dan elektrolit. Terlebih *E. coli* ini yang enfeksi oleh bakteriofage memproduksi sejenis verotoksin yang mirip dengan shigatoksin yang dihasilkan oleh bakteri Shigerti diketahui bakteri *Eschericia Coli* merupakan organisme yang normal terdapat dalam usus manusia sehingga keberadaannya bukan merupakan masalah. Namun beberapa strain tertentu dari barkteri ini dapat menimbulkan penyakit seperti diare dan mutaber. Hal ini berkaitan dengan kemampuan strain ini dalam memben tukentorotoksit yang berperan dalam pengeluaran cairan dan elektrosit. Terlebih *E. coli* ini yang infeksi oleh bakteriofage dapat memproduksi sejenis verotoksin yang mirip dengan shigotoksin yang dihasilkan oleh bakteri *Shigella sp.* (Anonymous, 2007).

Menurut Supardi dan Sukamto (1999), *E. coli* patogen menimbulkan sindroma klinik yaitu:

1. Gastroenterritis akut yang menyerang terutama anak-anak di bawah 2 tahun;
2. Infeksi di luar saluran pencernaan yaitu: infeksi saluran kemih, abses usus buntu, peritonitis, radang empedu dan infeksi pada luka bakar.

2.6 *Vibrio harveyi*

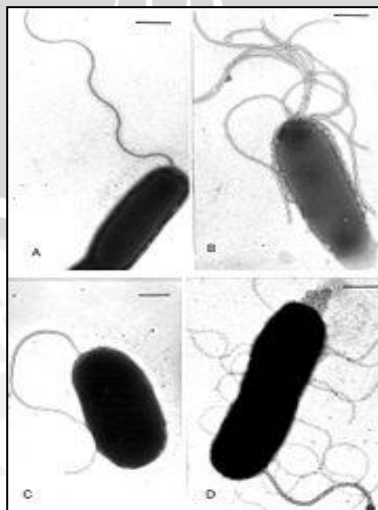
2.6.1 Morfologi dan Klasifikasi

Bakteri vibrio memiliki ciri-ciri sebagai berikut: mono sel, berbentuk koma, termasuk kelompok gram negatif, dapat bergerak karena memiliki flagela pada salah satu kutubnya. Vibrio merupakan patogen oportunitis, artinya bakteri ini dalam keadaan normal terdapat dalam media pemeliharaan dan akan berubah sifat dari saprofitik menjadi patogenik bila kondisi lingkungan memungkinkan (Prajitno, 1995).

Mempunyai sifat Gram negatif dengan ukuran $1 - 3 \times 0,4 - 0,6 \mu\text{m}$ tetapi ada beberapa literatur yang mengatakan bahwa Vibrio berukuran panjang $(1,4 - 5,0) \mu\text{m}$ dan lebar $(0,3 - 1,3) \mu\text{m}$. Vibrio memiliki satu buah flagel (monotrik) dan dapat bergerak sangat aktif (motil), tetapi tidak berspora (Violy, 2010).

()dan Menurut Noel, *et al* (1984), klasifikasi *vibrio* spp. Berdasarkan Bergey's Manual of Sistem Bacteriologi, yaitu:

Kingdom	:Eubacteria
Divisi	:Bacteri
Class	:Schizomycetes
Ordo	:Eubacteriales
Famili	:Vibrionaceae
Genus	:Vibrio
Spesies	: <i>Vibrio harveyi</i>



Gambar 3. *Vibrio harveyi* (www.citizendium.org)

2.6.2 Pertumbuhan dan Metabolisme

Faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan aktivitas dan pertumbuhan bakteri tersebut adalah faktor kualitas air yang terbukti mempunyai korelasipositif terhadap peledakan populasi *vibrio* spp yaitu kandungan organik dan suhu air. Perubahan kondisi lingkungan yang terjadi secara mendadak seperti perubahan suhu, peningkatan jumlah bahan organik dapat meningkatkan jumlah penyakit (Rukyani, *et al.*, 1992).

Vibrio harveyi bersifat anaerobik fakultatif di mana metabolisme dapat dilakukan dengan oksigen atau tanpa oksigen (fermentasi), selain itu bakteri ini dapat tumbuh baik pada media mineral yang mengandung ammonium, karbon sederhana dan glutamat (Prajitno, 1995).

Pada umumnya bakteri *Vibrio* spp. Tumbuh secara optimal pada suhu 30°C, salinitas optimum antara 20-30 ppt dari pH optimum berkisar antara 7,5-7,8. Bakteri *Vibrio* spp. Termasuk bakteri kemoorganotropik dapat tumbuh dalam mineral yang mengandung d glukosa dan NH₄Cl (Bauman *et al*, 1984). Prajitno (2005), menambahkan bahwa pertumbuhan bakteri ini terjadi dengan proses yang disebut pembelahan biner. Bakteri-bakteri tersebut membelah dengan cara memanjangkan sel diikuti dengan pembelahan sel yang membesar menjadi dua sel masing-masing kemudian membelah menjadi dua.

Karakteristik yang paling membedakan dari *V. harveyi* (dan semua bakteri dari keluarga vibronaceae) adalah kemampuan mereka untuk mengeluarkan cahaya atau berpendar. Ini terjadi melalui kuorum sensing yaitu suatu cara dimana sel dapat dikomunikasikan satu sama lain. Bioluminensi (kemampuan berpendar) bergantung pada konsentrasi sel karena enzim yang diperlukan (*luciferase*) hanya akan dihasilkan pada konsentrasi sel yang cukup tinggi melalui satu rangkaian reaksi kimia yang dipengaruhi oleh *autoinducers* (Citizendium, 2010).

2.6.3 Habitat dan Penyebaran

Pada umumnya *Vibrio* spp. Ditemukan di habitat-habitat akuatik, sebagian pada air laut, lingkungan estuarian dan berasosiasi dengan hewan laut. Bakteri ini juga ditemukan pada permukaan dan kandungan intestinal hewan laut. Hidup pada kisaran salinitas yang luas dan beberapa spesies ditemukan pada habitat air tawar (Bauman *et al*,1984).

Vibrio harveyi dapat ditemukan berenang bebas di perairan laut tropis, habitat dalam usus mikroflora dari laut hewan, dan sangat oportunistik patogen terhadap hewan laut, termasuk Gorgonian sp., kerang, udang, lobster, Common Snook, Bar, Turbot, bandeng, dan kuda laut (Nov_azz, 2010).

2.6.4 Patogenitas

Vibrio harveyi adalah sangat patogen bagi ikan dan invertebrata lainnya, termasuk hiu, seabass, kuda laut, lobster, dan udang. Patogenitasnya tergantung pada konsentrasi sel *Vibrio harveyi* pada waktu tertentu. Penyakit yang disebabkan oleh *Vibrio harveyi* termasuk lesi pada mata, gastro-enteritis, vaskulitis, dan vibriosis udang bercahaya. Penyakit udang bercahaya atau vibriosis adalah penyebab utama kematian di antara budidaya udang dan lainnya. Infeksi, oleh *Vibrio harveyi*, masuk melalui mulut dan bentuk plak, kemudian menyebar ke seluruh organ dan bagian tubuh udang. Telah dilaporkan kehilangan fungsi ekstremitas dan degradasi tambahan pada udang yang terserang *Vibrio harveyi*. Kontaminasi dapat menyebar sampai ke telur dan larva, sehingga menyebabkan masalah yang lebih besar bagi petani udang. Udang yang terinfeksi akan bercahaya pada malam hari. Kematian udang penaeid terjadi ketika dapat dipastikan pada konsentrasi *Vibrio harveyi* pada 120 sel / mililiter (Lightner, 1993 dalam Nov_azz, 2010).

Masih menurut Nov_azz (2010), *Vibrio harveyi* non patogenik untuk manusia, sehingga calon yang ideal untuk mempelajari genus *Vibrio*. Udang yang menderita vibriosis menunjukkan lesi terlokalisasi khas kutikula bakteri penyakit kulit, infeksi terlokalisasi dari luka tusukan, kehilangan anggota badan, berawan otot, terlokalisasi infeksi usus atau hepatopankreas dan / atau umum septicemia (Lightner, 1993). Lesi bakteri penyakit kulit coklat atau hitam dan akan muncul pada kutikula tubuh, pelengkap atau insang (Sinderman, 1990). Udang yang terserang akan menunjukkan hepatopankreatitis (Takahashi et al., 1985). Insang sering terlihat berwarna coklat (Anderson et al., 1988). Septic hepatopankreatitis ditandai oleh atrofi dari multifokal hepatopankreas dengan nekrosis dan peradangan. *Vibrio harveyi* yang patogen menyebabkan epitel rusak, dapat mempengaruhi angka kematian yang tinggi di tambak udang sebab epitel dan membran peritrophik lepas atau hilang. Selain itu, hilangnya epitel dapat mempengaruhi regulasi air dan masuknya ion ke dalam tubuh (Mykles 1977, Neufeld & Cameron, 1994).

2.7 Ekstraksi

Proses ekstraksi adalah proses pengeluaran sesuatu zat dari campuran zat, dengan jalan menambahkan bahan ekstraksi tepat pada waktunya. Hanya zat yang diekstrak yang dapat larut dalam bahan ekstraksi. Pemisahan yang diinginkan dapat terjadi karena adanya perbedaan dalam sifat yaitu dapat larutnya antara bagian – bagian campuran dari suatu campuran zat pada bahan pelarut. Dalam proses ekstraksi terjadi peralihan dari fase yang satu ke fase yang lain, yang diperoleh dengan jalan penambahan bahan pelarut yang disebut *solvent* (Wanto dan Romli, 1977)

Ekstraksi juga diartikan sebagai proses pemisahan zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Berdasarkan bentuk campuran yang

diekstrak, ekstraksi dibedakan menjadi dua macam yaitu ekstraksi padat-cair ; campuran yang diekstrak berbentuk padat, dan ekstraksi cair-cair ; cairan yang diekstrak berbentuk cair (Sax and Lewis, 1987 dalam Wijaya, 2001). Dan ekstraksi bentuk padat-cair paling sering digunakan untuk mengisolasi zat yang terkandung dalam bahan alami. Sifat – sifat seperti kepolaran, kelarutan bahan alami yang diisolasi berperan penting terhadap sempurnanya proses ekstraksi. Disamping pemilihan pelarut dan pengaturan suhu (Vogel, 1987).

Menurut Voigt (1994), proses ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase, yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Pada fase pencucian terjadi penyatuan cairan ekstraksi, melalui rusaknya sel – sel zat yang diekstrak atau merusakkan dengan operasi penghalusan, langsung kontak dengan bahan pelarut. Diharapkan komponen sel yang terdapat dalam sel lebih mudah diambil atau dicuci, sedangkan yang dimaksud dengan fase ekstraksi, peristiwanya lebih kompleks, yaitu suatu peristiwa yang memungkinkan terjadinya pelintasan bahan pelarut ke dalam bagian dalam sel. Dengan mengalirnya bahan pelarut ke dalam sel akan menyebabkan protoplasma membengkak, dan bahan kandungan sel akan terlarut sesuai dengan kelarutannya. Zat tersebut pindah sejauh mereka terlarut molekuler, mengikuti difusi melalui ruang antarmiselar.

Menurut Heldman (1975), faktor-faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi antara lain ukuran bahan, waktu kontak antara bahan dengan pelarut dan suhu ekstraksi. Ditambahkan Voight (1995), faktor lain yang menentukan hasil ekstraksi adalah perbandingan antara sampel terhadap cairan pengekstraksi (jumlah bahan pengekstraksi) dan jangka waktu dimana sampel kontak dengan cairan pengekstraksi (waktu ekstraksi).

Hal pertama yaitu ukuran bahan yang akan diekstraksi sebaiknya memiliki luas permukaan yang kecil untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut sehingga ekstraksi berlangsung baik (Puseglove *et al.*, 1981). Faktor

yang kedua yaitu suhu ekstraksi. Suhu ekstraksi merupakan faktor lain yang dapat mempengaruhinya karena kecepatan reaksi kimia tergantung dari jenis zat pereaksi, suhu ekstraksi dan konsentrasi zat pereaksi. Karena hal ini menyangkut proses bercampurnya antara zat terlarut dengan pelarut (Sukardjo, 1997).

Faktor ketiga yaitu lama ekstraksi, semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan (Suryandari, 1981). Waktu ekstraksi yang relatif lama, ditujukan untuk mendapatkan rendemen dan total pigmen yang tinggi, jika dilakukan dengan ekstraksi yang tidak mengalami pengadukan (Ekologi Industri, Tek. Pengelolaan Limbah, 2009) .

Faktor lain yang mempengaruhi hasil ekstraksi yaitu perbandingan antara sampel terhadap cairan pengekstraksi (jumlah bahan pengekstraksi). Menurut Susanto (1999), jumlah pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, tetapi jumlah yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak, dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal. Ditambahkan Komara (1991), banyaknya pelarut yang akan digunakan mempengaruhi konsentrasi jenuh larutan selama ekstraksi, makin banyak pelarut yang digunakan makin banyak solut yang terekstrak.

2.8 Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi sehingga banyak faktor yang harus diperhatikann. Dalam pemilihan pelarut harus melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar (Guenther, 1987). Larutan adalah campuran homogen antara dua komponen zat atau lebih. Dua komponen tersebut adalah pelarut (*solvent*) dan zat terlarut (*solute*). Pelarut merupakan komponen zat dalam jumlah lebih besar dalam suatu larutan (Rivai, 1995).

Proses melarutkan suatu zat ke dalam pelarut memperlihatkan adanya zat yang sangat mudah larut dalam pelarut tanpa dipaksakan. Hal ini disebabkan adanya sifat “*like dissolve like* “. Adanya faktor kecocokan antara zat terlarut dan pelarut, yang menyebabkan keduanya dapat bercampur menjadi satu, misalnya pelarut dan zat terlarut sama – sama bersifat polar (Pujaatmaka, 1990). Seperti juga yang dinyatakan oleh Vogel (1987), bahwa pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar, dan bagi senyawa non-polar larut dalam pelarut non polar.

Menurut Susanto (1999), jumlah pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, tetapi jumlah yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak, dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal. Ditambahkan Komara (1991), banyaknya pelarut yang akan digunakan mempengaruhi konsentrasi jenuh larutan selama ekstraksi, makin banyak pelarut yang digunakan makin banyak zat terlarut yang terekstrak.

Sifat penting lainnya dari pelarut adalah kecenderungan membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen adalah harga tetapan dielektrikannya dalam hubungan dengan momen dwi kutubnya. Terbentuknya sejumlah besar ikatan hidrogen menyebabkan tetapan dielektrika yang sangat tinggi. Dalam setiap larutan, pelarut memainkan peranan yang sangat penting. Molekul – molekul pelarut saling mempengaruhi dengan molekul – molekul bukan air. Saling pengaruh ini disebut pengaruh pelarutan atau *solvation effect*. Kadang – kadang pengaruh ini sangat lemah, tetapi dalam hal lain pelarutan dapat menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks yang terikat secara kimia (Day and Underwood, 1999).

Tabel 1. Sifat-Sifat Pelarut Umum

Solvent	Rumus kimia	Titik didih	Konstanta Dielektrik	Massa jenis
Pelarut Non-Polar				
Heksana	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	69 °C	2.0	0.655 g/ml
Benzena	C_6H_6	80 °C	2.3	0.879 g/ml
Toluena	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_3$	111 °C	2.4	0.867 g/ml
Dietil eter	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$	35 °C	4.3	0.713 g/ml
Kloroform	CHCl_3	61 °C	4.8	1.498 g/ml
Etil asetat	$\text{CH}_3\text{-C(=O)-O-CH}_2\text{-CH}_3$	77 °C	6.0	0.894 g/ml
Pelarut Polar Aprotic				
1,4-Dioksana	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$	101 °C	2.3	1.033 g/ml
Tetrahidrofuran (THF)	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$	66 °C	7.5	0.886 g/ml
Diklorometana (DCM)	CH_2Cl_2	40 °C	9.1	1.326 g/ml
Asetona	$\text{CH}_3\text{-C(=O)-CH}_3$	56 °C	21	0.786 g/ml
Asetonitril (MeCN)	$\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{N}$	82 °C	37	0.786 g/ml
Dimetilformamida (DMF)	$\text{H-C(=O)N(CH}_3)_2$	153 °C	38	0.944 g/ml
Dimetil sulfoksida (DMSO)	$\text{CH}_3\text{-S(=O)-CH}_3$	189 °C	47	1.092 g/ml
Pelarut Polar Protic				
Asam asetat	$\text{CH}_3\text{-C(=O)OH}$	118 °C	6.2	1.049 g/ml
<i>n</i> -Butanol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$	118 °C	18	0.810 g/ml
Isopropanol (IPA)	$\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CH}_3$	82 °C	18	0.785 g/ml
<i>n</i> -Propanol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$	97 °C	20	0.803 g/ml
Etanol	$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$	79 °C	30	0.789 g/ml
Metanol	$\text{CH}_3\text{-OH}$	65 °C	33	0.791 g/ml
Asam format	H-C(=O)OH	100 °C	58	1.21 g/ml
Air	H-O-H	100 °C	80	1.000 g/ml

Sumber: Wikipedia, (2009)

2.8.1 Heksana

Heksana adalah hidrokarbon dengan rumus kimia C_6H_{14} , merupakan sebuah alkana dengan enam atom karbon. Beberapa sesuai dengan struktur isomer dengan formula tersebut atau campuran dari mereka dalam sistem penamaan IUPAC, bagaimanapun, heksana adalah isomer yang tidak bercabang (n-heksana); pada empat struktur lainnya diberi nama methylated turunan dari pentana dan butana.

Heksana adalah konstituen yang berpengaruh nyata dalam bensin. Mereka adalah cairan yang tidak berwarna pada suhu ruang, dengan titik didih antara $50-70^{\circ}C$, dengan bau seperti bensin. Digunakan secara luas sebagai barang yang murah, relatif aman, sebagian besar tidak reaktif, dan sangat mudah menguap, merupakan pelarut non polar.

Dalam industri, heksana digunakan dalam formulasi lem untuk sepatu, produk dari kulit, dan atap. Mereka digunakan juga untuk mengekstrak minyak sayur dari biji-bijian, untuk membersihkan dan mendegradasi berbagai banyak hal, dan digunakan juga dalam pabrik tekstil. Dalam laboratorium, heksana digunakan untuk mengekstrak minyak dan benda yang mengkontaminasi air dan tanah (Wikipedia, 2010).

2.8.2 Kloroform

Kloroform disebut juga haloform disebabkan karena brom dan klor juga bereaksi dengan metal keton, yang menghasilkan masing-masing bromoform ($CHBr_3$) dan kloroform ($CHCl_3$). Hal ini disebut CHX_3 atau haloform, maka reaksi ini sering disebut reaksi haloform.

Sifat-sifat $CHCl_3$ antara lain berbentuk cairan pada suhu ruang dan memiliki bau yang khas. Penggunaan heksana yaitu sebagai pelarut untuk

lemak, *dry cleaning*, dan sebagainya. Selain itu juga digunakan sebagai obat bius.

Senyawa halokarbon seperti contohnya kloroform mudah dibuat, metana berklorin dibuat melalui klorinasi metana. Kloroform (CHCl_3), semua tidak larut dalam air, tetapi merupakan pelarut efektif untuk senyawa organik.

Dalam pembuatan atau pensintesaan kloroform perlu diperhatikan beberapa hal yaitu dengan adanya oksigen dari udara dan sinar matahari maka kloroform dapat teroksidasi dengan lambat menjadi fosgen (gas yang sangat beracun), maka untuk mencegah terjadinya fosgen ini maka kloroform, disimpan dalam botol yang berwarna coklat yang terisi dan mengandung 0,5 – 1% etanol (untuk mengikat bila terjadi fosgen) (Fatmawaty, 2009).

2.8.3 Etanol

Etanol, disebut juga etil alkohol, alkohol murni, alkohol absolut, atau *alkohol* saja, adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Senyawa ini merupakan obat psikoaktif dan dapat ditemukan pada minuman beralkohol dan termometer modern. Etanol adalah salah satu obat rekreasi yang paling tua.

Etanol termasuk ke dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ dan rumus empiris $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$. Ia merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol sering disingkat menjadi EtOH, dengan "Et" merupakan singkatan dari gugus etil (C_2H_5).

Fermentasi gula menjadi etanol merupakan salah satu reaksi organik paling awal yang pernah dilakukan manusia. Efek dari konsumsi etanol yang memabukkan juga telah diketahui sejak dulu. Pada zaman modern, etanol yang

ditujukan untuk kegunaan industri dihasilkan dari produk sampingan pengilangan minyak bumi.

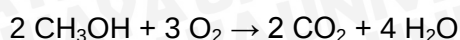
Etanol banyak digunakan sebagai pelarut berbagai bahan-bahan kimia yang ditujukan untuk konsumsi dan kegunaan manusia. Contohnya adalah pada parfum, perasa, pewarna makanan, dan obat-obatan. Dalam kimia, etanol adalah pelarut yang penting sekaligus sebagai stok umpan untuk sintesis senyawa kimia lainnya. Dalam sejarahnya etanol telah lama digunakan sebagai bahan bakar. Etanol adalah pelarut yang serbaguna, larut dalam air dan pelarut organik lainnya, meliputi asam asetat, aseton, benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dietil eter, etilena glikol, gliserol, nitrometana, piridina, dan toluena. Ia juga larut dalam hidrokarbon alifatik yang ringan, seperti pentana dan heksana, dan juga larut dalam senyawa klorida alifatik seperti trikloroetana dan tetrakloroetilena (Wikipedia, 2010).

2.8.4 Metanol

Metanol, juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau *spiritus*, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Ia merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada "keadaan atmosfer" ia berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Ia digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri.

Metanol diproduksi secara alami oleh metabolisme anaerobik oleh bakteri. Hasil proses tersebut adalah uap metanol (dalam jumlah kecil) di udara. Setelah beberapa hari, uap metanol tersebut akan teroksidasi oleh oksigen dengan bantuan sinar matahari menjadi karbon dioksida dan air. Reaksi kimia

metanol yang terbakar di udara dan membentuk karbon dioksida dan air adalah sebagai berikut:



Api dari metanol biasanya tidak berwarna. Oleh karena itu, kita harus berhati-hati bila berada dekat metanol yang terbakar untuk mencegah cedera akibat api yang tak terlihat.

Metanol digunakan secara terbatas dalam mesin pembakaran dalam, dikarenakan metanol tidak mudah terbakar dibandingkan dengan bensin. Metanol campuran merupakan bahan bakar dalam model radio kontrol.

Penggunaan metanol terbanyak adalah sebagai bahan pembuat bahan kimia lainnya. Sekitar 40% metanol diubah menjadi formaldehyde, dan dari sana menjadi berbagai macam produk seperti plastik, plywood, cat, peledak, dan tekstil. Dalam beberapa pabrik pengolahan air limbah, sejumlah kecil metanol digunakan ke air limbah sebagai bahan makanan karbon untuk denitrifikasi bakteri, yang mengubah nitrat menjadi nitrogen.

Bahan bakar direct-metanol unik karena suhunya yang rendah, operasi pada tekanan atmosfer, memungkinkan mereka dibuat kecil. Ditambah lagi dengan penyimpanan dan penanganan yang mudah dan aman membuat metanol dapat digunakan dalam perlengkapan elektronik (Wikipedia, 2010).

2.8.5 Air (Aquades)

Air adalah substansi kimia dengan rumus kimia H_2O : satu molekul air tersusun atas dua atom hidrogen yang terikat secara kovalen pada satu atom oksigen. Air bersifat tidak berwarna, tidak berasa dan tidak berbau pada kondisi standar, yaitu pada tekanan 100 kPa (1 bar) and temperatur 273,15 K (0 °C). Zat kimia ini merupakan suatu pelarut yang penting, yang memiliki kemampuan untuk

melarutkan banyak zat kimia lainnya, seperti garam-garam, gula, asam, beberapa jenis gas dan banyak macam molekul organik.

Keadaan air yang berbentuk cair merupakan suatu keadaan yang tidak umum dalam kondisi normal, terlebih lagi dengan memperhatikan hubungan antara hidrida-hidrida lain yang mirip dalam kolom oksigen pada tabel periodik, yang mengisyaratkan bahwa air seharusnya berbentuk gas, sebagaimana hidrogen sulfida. Dengan memperhatikan tabel periodik, terlihat bahwa unsur-unsur yang mengelilingi oksigen adalah nitrogen, fluor, dan fosfor, sulfur dan klor. Semua elemen-elemen ini apabila berikatan dengan hidrogen akan menghasilkan gas pada temperatur dan tekanan normal. Alasan mengapa hidrogen berikatan dengan oksigen membentuk fasa berkeadaan cair, adalah karena oksigen lebih bersifat elektronegatif ketimbang elemen-elemen lain tersebut (kecuali fluor). Tarikan atom oksigen pada elektron-elektron ikatan jauh lebih kuat dari pada yang dilakukan oleh atom hidrogen, meninggalkan jumlah muatan positif pada kedua atom hidrogen, dan jumlah muatan negatif pada atom oksigen. Adanya muatan pada tiap-tiap atom tersebut membuat molekul air memiliki sejumlah momen dipol. Gaya tarik-menarik listrik antar molekul-molekul air akibat adanya dipol ini membuat masing-masing molekul saling berdekatan, membuatnya sulit untuk dipisahkan dan yang pada akhirnya menaikkan titik didih air. Gaya tarik-menarik ini disebut sebagai ikatan hidrogen.

Air sering disebut sebagai *pelarut universal* karena air melarutkan banyak zat kimia. Air berada dalam kesetimbangan dinamis antara fase cair dan padat di bawah tekanan dan temperatur standar. Dalam bentuk ion, air dapat dideskripsikan sebagai sebuah ion hidrogen (H^+) yang berasosiasi (berikatan) dengan sebuah ion hidroksida (OH^-).

Air adalah pelarut yang kuat, melarutkan banyak jenis zat kimia. Zat-zat yang bercampur dan larut dengan baik dalam air (misalnya garam-garam)

disebut sebagai zat-zat "hidrofilik" (pencinta air), dan zat-zat yang tidak mudah tercampur dengan air (misalnya lemak dan minyak), disebut sebagai zat-zat "hidrofobik" (takut-air). Kelarutan suatu zat dalam air ditentukan oleh dapat tidaknya zat tersebut menandingi kekuatan gaya tarik-menarik listrik (gaya intermolekul dipol-dipol) antara molekul-molekul air. Jika suatu zat tidak mampu menandingi gaya tarik-menarik antar molekul air, molekul-molekul zat tersebut tidak larut dan akan mengendap dalam air (Wikipedia, 2010).

2.9 Uji Aktivitas Antimikroba

2.9.1 Uji Cakram

Penentuan aktivitas antimikroba suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan bila terpenuhi tiga syarat, yaitu (1) ekstrak tanaman harus bisa kontak dengan dinding sel mikroorganisme, (2) Kondisi pengujian diatur sedemikian rupa sehingga mikroorganisme dapat tumbuh saat tidak ada bahan antimikroba, dan (3) Ada parameter ukur tingkat pertumbuhan mikroorganisme (Hostettmann, 1991). Banyak metode yang dapat diterapkan untuk menentukan aktivitas antimikroba dimana masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan.

Beberapa bahan antimikroba tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antimikroba bersifat menghambat apabila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Salah satu cara untuk menguji bahan antimikroba dapat dilakukan dengan uji cakram. Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).

Lebar daerah hambatan ini tergantung pada konsentrasi obat yang digunakan. Cakram ini bisa untuk menggolongkan pengaruh obat antimikroba yaitu sensitif (S) dan resisten (R), intermediate (I). Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh ada pergeseran sedikitpun dan pengukuran diameter daerah hambatan dalam milimeter (Bonang dan Koeswardono, 1982). Adapun cara peletakan kertas cakram dengan petridis minimal 15 mm dan jika jumlah cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram minimal 24 mm (Lay, 1994).

2.9.2 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri adalah antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Pengertian antimikroba secara umum adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan digunakan untuk kepentingan pengobatan infeksi pada manusia dan hewan (Murni, 1998). Sedangkan pengertian antimikroba menurut Munaf dan Chaidir (1994) adalah obat-obat yang digunakan untuk memberantas infeksi mikroba pada manusia.

Berdasarkan aktifitasnya antibakteri dibedakan menjadi dua bagian yaitu aktivitas bakteriostatik dan aktivitas bakterisida. Aktivitas bakteriostatik bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan aktivitas bakterisida bersifat membunuh bakteri (Murni, 1998).

Menurut Sulistia (1995), mekanisme kerja antibakteri dibedakan dalam lima kelompok, yaitu antibakteri yang menghambat metabolisme sel, menghambat sintesis dinding sel, mengganggu membran sel, menghambat sintesis protein dan menghambat sintesis asam nukleat.

a. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel mikroba

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah sulfonamid, trimetoprin, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya yang disintesis dari asam para amino

benzoat (PABA). Apabila sulfonamid atau sulfon menang bersaing dengan PABA untuk ikut disertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Antibakteri menghambat enzim dihidrofolat sehingga asam dihidrofolat tidak tereduksi menjadi asam tetrahidrofolat yang fungsional.

b. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah penisilin, safolosporin, basitrsain, vonkomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida. Sikloserin menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel, diikuti oleh antibakteri yang menghambat reaksi terakhir dalam rangkaian reaksi tersebut.

c. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik. Antibakteri merusak dinding sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosolipid membran sehingga jumlah fosfor menurun. Hal ini mempengaruhi permeabilitas selektif membran tersebut. Kerusakan membran menyebabkan keluarnya komponen dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain.

d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Protein dibutuhkan untuk kehidupan mikroba. Sintesis protein berlangsung di ribosom sub unit 30S dan 50S dengan bantuan mRNA dan tRNA. Kedua subunit tersebut harus bersatu agar dapat berfungsi untuk mensintesis protein. Penghambatan bakteri dengan dua cara yaitu:

Antibakteri berikatan dengan ribosom 30S menyebabkan kode pada mRNA salah baca oleh tRNA pada waktu sintesis protein, akibatnya terbentuk protein yang abnormal dan unfungsional. Antibakteri berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA-peptida dari lokasi asam

amino ke lokasi peptida. Akibatnya rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA-asam amino yang baru.

e. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat

Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah rifampisilin, dan golongan kuinolon. Antibakteri berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut.

2.10 GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometri)

Kromatografi merupakan metode pemisahan. Dibandingkan dengan metode pemisahan klasik seperti destilasi, kristalisasi, pengendapan ekstraksi, dan lain-lain, mempunyai kelebihan dalam pelaksanaan yang lebih sederhana. Penggunaan waktu yang singkat dan terutama mempunyai kepekaan serta kemampuan memisahkan serta kemampuan pemisahan yang tinggi. Prosedur kromatografi dapat digunakan jika metode klasik tidak dapat dilakukan karena jumlah cuplikan rendah, kompleksitas campuran yang hendak dipisahkan atau sifat kekerabatan zat yang hendak dipisah. Kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi gas dapat dilakukan dalam laboratorium dan sangat sesuai dengan identifikasi dan pemeriksaan kemurnian senyawa obat dan campuran senyawa obat dan campuran senyawa obat. Prosedur kromatografi tunggal dapat dibedakan menurut jenis pemisahan zat atau menurut jenis pemisahan zat atau menurut materi pemisahan yang digunakan. Seringkali berbagai prinsip pemisahan dijadikan satu. Untuk karakterisasi hasil pemisahan dikenal dengan parameter pengenalan (Roth dan Blaschke, 1985).

Kegunaan umum kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan

juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi gas dapat bersifat destruktif dan dapat bersifat non-destruktif tergantung detektor yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hites (2007) dalam Putra (2007) menyatakan, teknik analisis GC-MS merupakan gabungan dari teknik kromatografi gas dan teknik spektrometri massa. Pada GC-MS, kromatografi gas berfungsi sebagai pemisah senyawa-senyawa yang terdapat pada sampel yang dianalisis dengan resolusi tinggi, sedangkan bagian spektrometri massa berfungsi mengidentifikasi senyawa-senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi gas.

2.10.1 Prinsip Kromatografi Gas (GC)

Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang mana solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pada umumnya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya, kecuali jika ada interaksi khusus antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke dedektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi (Gandjar dan Rohman, 2007).

Ada dua jenis kromatografi gas:

1. Kromatografi gas-cair (KGC)

Pada KGC ini, fase diam yang digunakan adalah fase cairan yang dikaitkan pada suatu pendukung sehingga solut akan terlarut pada fase diam. Mekanisme *sorpsi*-nya adalah partisi.

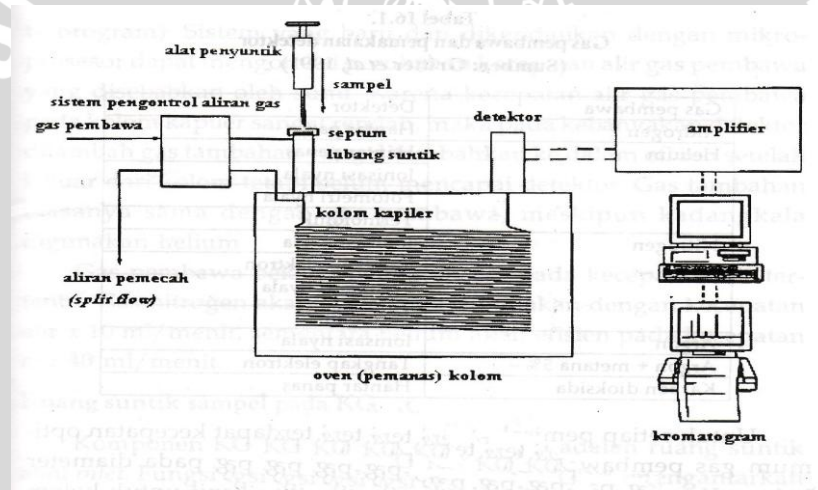
2. Kromatografi Gas-Padat (KGP)

Pada KGP ini, digunakan fase diam padatan (kadang-kadang polimerik).

Mekanisme *sorps*-nya adalah adsorpsi.

a. Sistem Peralatan KG

Diagram skematik peralan KG ditunjukkan oleh gambar di bawah ini, dengan komponen utama adalah: kontrol dan penyedia gas pembawa, ruang suntik sampel, kolom yang diletakkan dalam oven yang dikontrol secara termostatik; sistem deteksi dan pencatat (detektor dan *recorder*); serta komputer yang dilengkapi dengan perangkat pengolah data (Gandjar dan Rohman, 2007).



Gambar 4. Kromatografi Gas

b. Fase Gerak pada KG

Fase gerak pada KG juga disebut gas pembawa karena tujuan awalnya adalah untuk membawa solut ke kolom, karenanya gas pembawa tidak berpengaruh pada selektifitas. Syarat gas pembawa adalah: tidak reaktif, murni/kering karena kalau tidak murni akan berpengaruh pada detektor; dan dapat disimpan pada tangki yang bertekanan tinggi (biasanya merah untuk hidrogen, dan abu2 untuk nitrogen). Helium merupakan tipe gas pembawa yang sering digunakan karena memberikan efisiensi kromatografi yang lebih baik

(mengurangi pelebaran pita). Pada dasarnya kecepatan aliran gas pembawa berbanding lurus dengan penampang kolom. Kecepatan aliran gas kira-kira 50-70 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 6 mm, 25-30 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 3 mm. Kolom kapiler memakai kecepatan gas yang rendah, yakni antara 0,2-2 ml/ menit (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Ruang Suntik Sampel pada KG

Komponen KG yang utama selanjutnya adalah ruang suntik atau *inlet*. Fungsi dari ruang suntik adalah untuk mengantarkan sampel ke dalam aliran gas pembawa. Ruang suntik harus dipanaskan terlebih dahulu (terpisah dari kolom) dan biasanya 10°-15°C lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel akan menguap segera setelah sampel disuntikkan.

Pada kolom kapiler, sampel yang diperlukan sangat sedikit, bahkan sampai 0,01 µl. Karena pengukuran secara akurat sulit dilakukan jika sampel yang disuntikkan terlalu kecil, maka ditempuh suatu cara untuk memperkecil ukuran sampel setelah penyuntikan. Salah satu cara yang dilakukan adalah dengan menggunakan teknik pemecah suntikan (*split injection*). Sampel yang ideal dalam kromatografi gas adalah sampel yang hanya mengandung senyawa yang akan dipisahkan dalam kolom, dan dalam banyak hal juga pelarut yang mudah menguap yang melarutkan sampel tersebut. Konsentrasi sampel biasanya berkisar antara 1-10% (Gandjar dan Rohman, 2007).

d. Kolom pada KG

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Oleh karena itu, kolom merupakan komponen sentral pada KG. Ada dua jenis kolom pada KG yaitu:

- Kolom Kemas

Jenis kolom ini terbuat dari gelas atau logam yang tahan karat atau dari tembaga dan aluminium. Panjang kolom jenis ini adalah 1-5 meter dengan diameter dalam 1-4 mm. Efisiensi kolom akan meningkat dengan semakin bertambah halus partikel fase diam ini. Ukuran partikel fase diam biasanya berkisar antara 60-80 mesh (250-170 μm).

- Kolom Kapiler

Kolom kapiler memiliki rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa (tube). Fase diam melekat mengelilingi dinding dalam kolom. Fase diam yang dipakai di kolom kapiler dapat bersifat polar, semi polar maupun non polar.

Banyak bahan kimia yang digunakan sebagai fase diam antara lain: squalen, DEGS (Diethylglycol succinate), OV-17 (*phenyl methyl silicone oil*). Semakin tipis lapisan yang menyalut sebagai fase diam, maka semakin tinggi suhu operasionalnya. Untuk lapisan salut $< 1\mu\text{m}$, suhu operasional dapat mencapai 460°C , sementara itu suhu minimalnya dapat mencapai -60°C (Gandjar dan Rohman, 2007).

e. **Detektor pada KG**

Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom tempat keluar fase gerak (gas pembawa) yang membawa komponen hasil pemisahan. Detektor pada kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik.

Pada garis besarnya detektor pada KG termasuk detektor diferensial, dalam arti respon yang keluar dari detektor memberikan relasi yang linier dengan kadar atau laju aliran massa komponen yang teresolusi. Kromatogram yang merupakan hasil pemisahan fisik komponen-komponen oleh K disajikan oleh

detektor sebagai deretan luas puncak terhadap waktu. Waktu tambat tertentu dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data kualitatif, sedangkan luas puncak dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data kualitatif yang keduanya telah dikonfirmasi dengan senyawa baku (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.10.2 Spektrometri Massa (SM)

Spektrometri massa sejak penampilannya yang baru (kira-kira 1960), telah merevolusikan penelitian biokimia mengenai bahan alam dan telah meringankan beban fitokimia dalam banyak hal. Nilai cara ini terletak pada kecilnya bahan yang diperlukan (skala mikro gram), kemampuannya menentukan bobot molekul dengan tepat, kemampuannya menghasilkan pola fragmentasi rumit yang sering khas bagi senyawa yang bersangkutan sehingga dapat diidentifikasi.

Pada dasarnya spektrometri massa adalah penguraian sesepora senyawa organik dan perekaman pola fragmentasi menurut massanya. Uap cuplikan berdifusi ke dalam sistem spektrometer massa yang bertekanan rendah, lalu diionkan dengan energi yang cukup untuk memutuskan ikatan kimia. Ion bermuatan positif yang terbentuk dipercepat dalam medan magnet yang menyebarkan ion tersebut dan memungkinkan pengukuran kelimpahan nisbi ion yang mempunyai nisbah massa terhadap muatan tertentu. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa merupakan grafik spektrum massa yang terdiri atas sederetan garis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa yang berlainan.

Pada kebanyakan senyawa, sebagian kecil dari senyawa induk tahan terhadap proses penguapan dan akan direkam sebagai puncak ion molekul atau ion induk. Lalu, massa ion induk dan ion lainnya dapat diukur dengan sangat

tepat (sampai 0,0001 satuan massa). Ketepannya sedemikian rupa sehingga dapat menunjukkan rumus molekul senyawa secara tepat dan dengan demikian analisis unsur yang lazim (yang biasanya memerlukan beberapa mg senyawa) tidak diperlukan lagi (Harborne, 2006).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak sponge segar adalah sponge *Geodia* sp. segar yang diperoleh dari perairan Pulau Gili, Kabupaten Probolinggo, Jawa Timur. Selain itu juga digunakan pelarut seperti aquades, etanol, metanol, kloroform, dan heksan serta aluminium foil dan kertas saring. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji cakram adalah kertas cakram (*paper disc*), *cotton swap*, biakan murni bakteri *e. coli* dan *Vibrio harveyi* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Media TSA (*tripton soy agar*) untuk menumbuhkan *e. coli*, dan media TCBSA (*thiosulfat citrate bilesalt sucrosa agar*) untuk menumbuhkan *Vibrio harveyi*. Sedangkan untuk uji GC-MS digunakan ekstrak kasar sponge sebagai bahan yang akan diuji.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak kasar sponge adalah baskom, pisau, talenan, timbangan analitik, beaker glass, erlenmayer, corong glass, rotary vacuum evaporator, gelas ukur serta lemari es untuk menyimpan sampel. Adapun alat-alat yang digunakan untuk uji cakram adalah autoklaf untuk sterilisasi alat, micro pipet, cawan petri, bunsen, dan inkubator. GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) diperlukan untuk identifikasi senyawa bioaktif yang ada pada sponge.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode Eksperimen

Tahap pertama penelitian ini digunakan metode eksperimen. Metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki (Suryasubrata, 1989). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen (Nazir, 1988). Menurut Singarimbun dan Effendi (1983), penelitian eksperimental lebih mudah dilakukan di laboratorium karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia, dimana pengaruh luar dapat dengan mudah dicegah selama eksperimen. Penelitian dapat dilakukan tanpa atau dengan kelompok pembandingan.

Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak sponge *Geodia* sp. segar terhadap *Vibrio harveyi* dan *E. coli* dan untuk mengetahui jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada sponge *Geodia* sp. segar.

3.2.2 Metode Deskriptif

Tahap kedua penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Metode deskriptif yaitu metode yang menggambarkan suatu keadaan atau kejadian. Penelitian deskriptif hanya akan melukiskan keadaan objek atau persoalannya dan tidak dimaksudkan untuk mengambil kesimpulan yang berlaku umum. Dalam hal ini penelitian deskriptif merupakan akumulasi data dasar, dan tidak perlu menerangkan mestest hipotesis, membuat ramalan atau mendapatkan makna dan implikasi (Suryabrata, 1983).

Tujuan penelitian tahap dua adalah untuk mengidentifikasi komponen bioaktif yang terkandung dalam sponge *Geodia* sp. segar dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS).

3.2.3 Variabel Penelitian

Menurut Surachmad (1994), ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis pelarut yang berbeda saat ekstraksi yaitu heksan 95 %, kloroform 95 %, metanol 95 %, etanol 95 % dan air. Sedangkan sebagai variabel terikat adalah diameter daerah hambatan yang terlihat di sekitar kertas cakram (mm).

3.2.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan.

Perlakuan:

- A : ekstraksi dengan pelarut aquades
- B : ekstraksi dengan pelarut etanol
- C : ekstraksi dengan pelarut metanol
- D : ekstraksi dengan pelarut kloroform
- E : ekstraksi dengan pelarut hexan

Tabel 2. Rancangan Penelitian

Jenis Pelarut	Ulangan			
	1	2	3	4
A	A1	A2	A3	A4
B	B1	B2	B3	B4
C	C1	C2	C3	C4
D	D1	D2	D3	D4
E	E1	E2	E3	E4

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1. Pembuatan Ekstrak Sponge Segar

Sponge (*Geodia* sp.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari perairan P.Gili Kabupaten Probolinggo. Sponge segar dicuci dan dibersihkan dari kotoran yang menempel dan kemudian diangin-anginkan. Sampel sponge kemudian dipotong kecil-kecil. Selanjutnya dimaserasi dengan mengunkan pelarut enatanol, metanol, heksana, kloroform, dan air dengan perbandingan 1:1 selama 3 X 24 jam. Proses maserasi sampel dilakukan di ruang penyimpanan di laboratorium. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring sehingga didapat campuran. Campuran kemudian dikentalkan dengan cara dirotari evaporator pada suhu titik didih masing-masing pelarut yang digunakan. Ekstrak kemudian ditampung dalam botol vial sehingga diperoleh ekstrak atanol, metanol, heksana, kloroform dan air yang bebas dari pelarut dan kotoran.

3.3.2 Pembuatan Media

Uji cakram adalah uji untuk mengetahui aktivitas anti bakteri. Kertas cakram yang telah ditetesi zat anti bakteri diletakkan pada medium yang di permukaannya telah disebar biakan mikroba yang menjadi mikroba uji. Jadi, pertama-tama harus dibuat media untuk pertumbuhan mikroba. Media TCBSA

digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Vibrio harveyi* dan media TSA digunakan untuk menumbuhkan bakteri *E. Coli*.

a. Medium TCBSA

Tabel 3. Komposisi Medium TCBSA

Formula	Gram per liter
Yeast Extract Powder	5
Bacteriological Pepton	10
Sodium thosulphate	10
Sodium Citrat	10
Ox Bile	8
Sucrose	20
Sodium Chloride	10
Ferrc Citrat	1
Bro-thymol blue	0,04
Thymol-blue	0,04
Agar No.1	14

Prosedur Pembuatan

1. Ditimbang 88 gram bubuk/powder medium TCBSA
2. Masukkan erlemeyer 2 L
3. Ditambahkan aquadest sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 lt
4. Dimasukkan dalam waterbath suhu 100°C selama 15 menit
5. Selama pemanasan di waterbath sesekali digoyang erlemeyer untuk membantu pelarutan (supaya homogen)
6. Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlemeyer
7. Medium dituangkan pada cawan steril ± 20 ml , tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas.

8. Jika sudah mengeras medium dalam cawan tersebut diinkubasi 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium
9. Jika melewati uji sterilitas medium sudah siap untuk digunakan.

b. Medium Tryptone Soya Agar (TSA)

Tabel 4. Komposisi Medium Tryptone Soya Agar (TSA)

Formula	Gram per liter
Tryptone	15
Soya Peptone	5
Sodium Chloride	5
Agar	15

Prosedur Pembuatan;

1. Ditimbang 40 gram bubuk/powder medium TSA
2. Masukkan erlemeyer 2 L
3. Ditambahkan aquadest sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 lt
4. Dimasukkan dalam waterbath suhu 100°C selama 15 menit
5. Selama pemanasan di waterbath sesekali erlemeyer digoyang untuk membantu pelarutan (supaya homogen)
6. jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlemeyer
7. Medium dalam erlemeyer tersebut disterilisasi dalam autoclave suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit
8. Setelah disterilisasi medium didinginkan sampai suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ (hangat-hangat kuku)
9. Medium dituangkan pada cawan steril ± 20 ml per cawan petri

10. Jika sudah mengeras medium dalam cawan tersebut diinkubasi 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium
11. Jika melewati uji sterilitas medium sudah siap untuk digunakan Jika sudah mengeras medium dalam cawan tersebut diinkubasi 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium
12. Jika melewati uji sterilitas medium sudah siap untuk digunakan.

3.3.3 Uji Cakram

Untuk mengetahui konsentrasi yang memberikan diameter daerah hambatan terbesar dilakukan uji cakram, yaitu pengujian antimikroba dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Dengan demikian dapat diketahui efektifitas atau pengaruh perlakuan terhadap diameter daerah hambatan bakteri *E. coli* dan *Vibrio harveyi*. Adapun tahapan-tahapan dalam pelaksanaan uji cakram metode Kirby-Bauer adalah sebagai berikut:

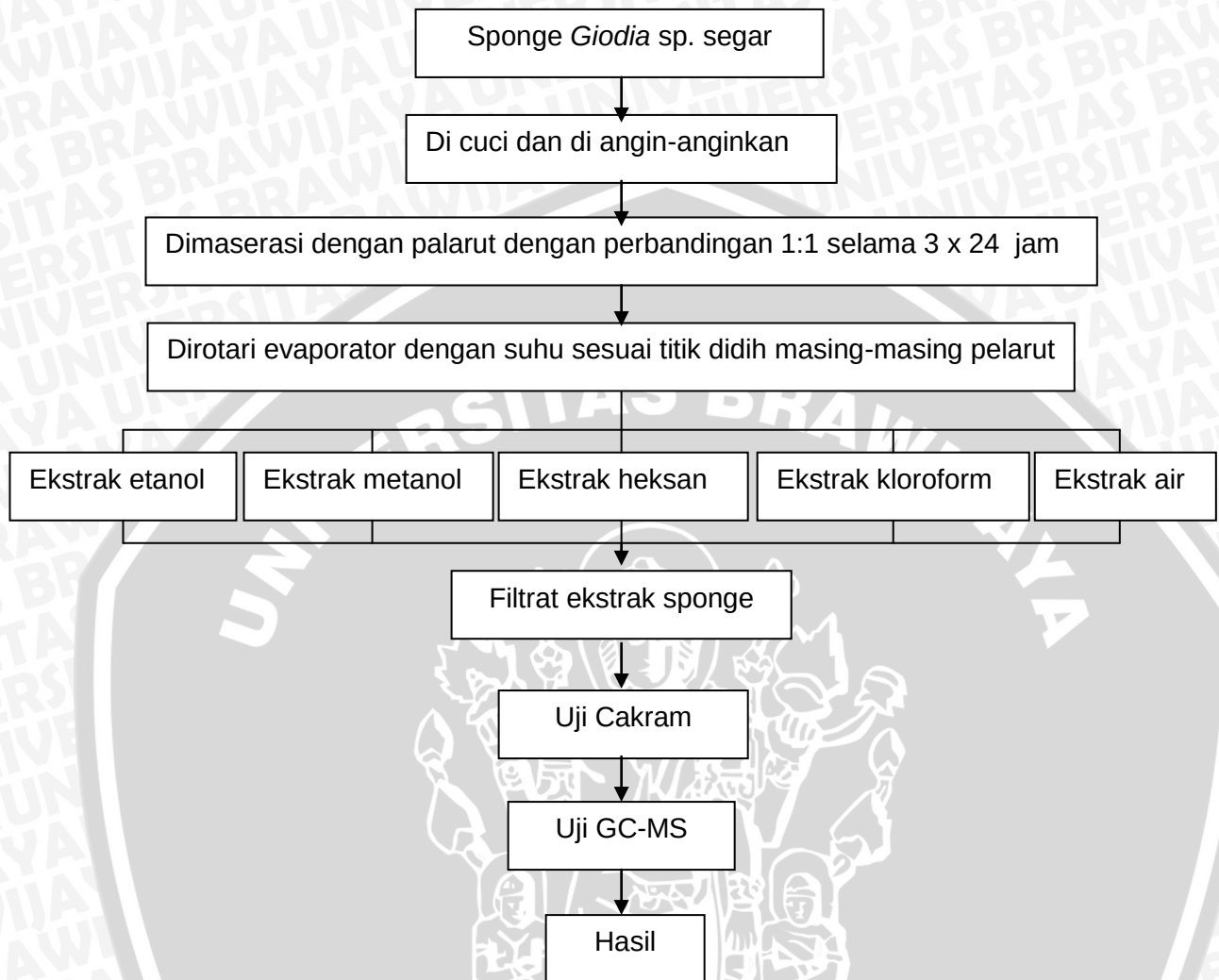
1. Lempeng agar Muller Hinton Agar (MHA) ditandai dengan nama , tanggal dan mikroorganisme yang akan diuji.
2. Kapas Lidi (cotton swab) steril dicelupkan dalam suspensi biakan uji, dengan OD : 0,1 CFU/ml, kemudian kapas lidi diputar pada dinding tabung (diperas) agar cairan tidak menetes dari bagian kapas tersebut.
3. Sebar mikroganinisme pada seluruh permukaan lempeng agar dengan cara dioleskan, untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, kapas lidi dioleskan secara mendatar, kemudian diputar lempeng agar 90° dan dibuat olesan kedua , dengan lempeng agar diputar 45° dan dibuat olesan ketiga.

4. Lempeng agar dibiarkan mengering kurang lebih 5 menit, kemudian tempatkan kertas cakram yang sudah direndam dengan sampel yang diujikan pada permukaan lempeng agar.
5. Dalam 1 lempeng agar dapat digunakan 5-6 macam dosis perlakuan, jarak antara kertas cakram harus cukup luas, sehingga wilayah jernih tidak saling berhimpitan yang nantinya akan menyulitkan dalam proses pengukuran zona hambat.
6. Kertas cakram ditekan dengan pinset, tidak perlu terlalu keras karena akan merusak permukaan agar.
7. Lempeng yang sudah ditempelkan kertas cakram diinkubasi pada suhu optimal tumbuh dari bakteri patogen yang sedang diujikan.
8. Setelah bakteri uji sudah tumbuh merata, dan terlihat adanya zona jernih dipermukaan agar, maka luas zona jernih dapat diukur dengan mengukur diameternya.

3.3.4 Analisis GC-MS

Analisis GCMS dilakukan terhadap hasil ekstrak yang positif menunjukkan daya antibakteri terhadap bakteri *e. coli* dan *Vibrio harveyii*. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injektor 290° C, suhu awal oven 100° C. laju kenaikan suhu 10° C/menit, dan suhu akhir oven 290° C. identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC.

3.4 Skema kerja Penelitian



Gambar 5. Flowcahrt Pembuatan Ekstrak Sponge segar

3.5 Parameter Uji

Parameter yang dilakukan adalah parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang terlihat di sekitar kertas cakram (mm).

3.6 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan uji F dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT pada taraf 5 % dan 1 % untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pengamatan

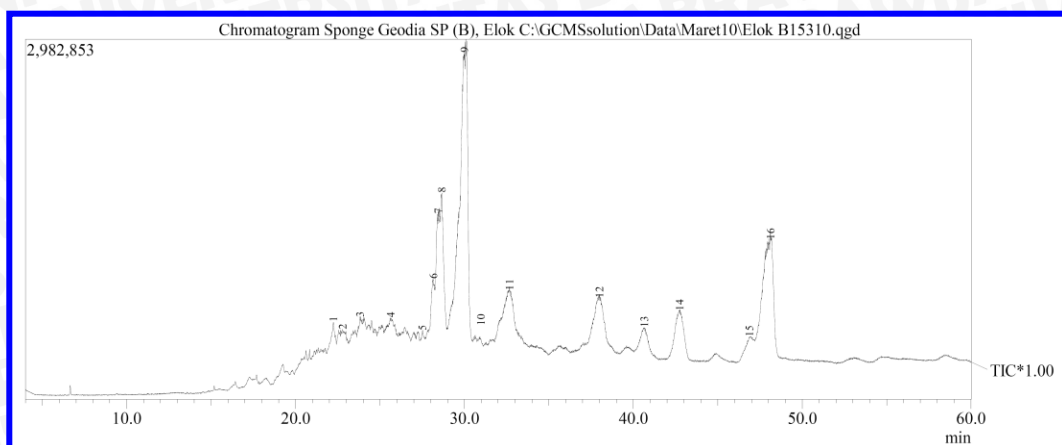
Hasil pengamatan dari penelitian yang berjudul “Studi Daya Antibakteri Ekstrak Karang Lunak (*Geodia* sp.) Segar Terhadap Bakteri *E. coli* dan *Vibrio harveyi* Beserta Kandungan Senyawa Aktifnya” adalah seperti yang tertera pada tabel di bawah ini. Adapun analisa yang dilakukan adalah perhitungan diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *Vibrio harveyi* menggunakan metode uji cakram dan analisis kandungan senyawa bioaktif dominan melalui uji GCMS.

Tabel 5. Diametr Zona Hambatan Ekstrak Sponge Basah terhadap Bakteri Uji *E. coli*

Pelarut	Diameter Zona Hambat (mm)					Rerata (mm)
	Kontrol	I	II	III	IV	
Air	6,00	6,34	6,08	6,12	6,12	6,163
Etanol	6,00	6,06	6,06	6,08	6,02	6,055
Metanol	6,00	6,02	6,01	6,05	6,02	6,025
Chlorfm	6,01	10,42	11,10	10,44	10,28	10,56
Hexan	6,00	7,12	7,23	7,15	7,09	7,148

Tabel 6. Diametr zona hambatan ekstrak sponge basah terhadap bakteri uji *Vibrio harveyi*

Pelarut	Diameter Zona Hambat (mm)					Rerata (mm)
	Kontrol	I	II	III	IV	
Air	6,00	6,34	6,08	6,12	6,12	6,165
Etanol	6,00	6,06	6,06	6,08	6,02	6,055
Metanol	6,00	6,02	6,01	6,05	6,02	6,025
Chlorfm	6,01	6,42	6,20	6,42	6,28	6,330
Hexan	6,00	6,12	6,23	6,15	6,28	6,195



Gambar 5. Hasil Analisis Uji GCMS

4.2 Pembahasan

4.2.1 Ekstraksi Sponge Segar

Ekstraksi adalah suatu cara untuk mendapatkan ekstrak kasar dari sponge segar. Ekstraksi dilakukan menggunakan lima larutan yang berbeda dari larutan non polar hingga polar. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui perbedaan efektivitas beberapa pelarut tersebut untuk mengekstrak zat bioaktif karang lunak. Ekstraksi yang dilakukan yaitu dengan melakukan perendaman 100 gr sponge segar yang telah dicacah halus dengan 100 ml pelarut. Setelah dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotari evaporator vakum dihasilkan rata-rata 7 ml larutan ekstrak kasar spoge.

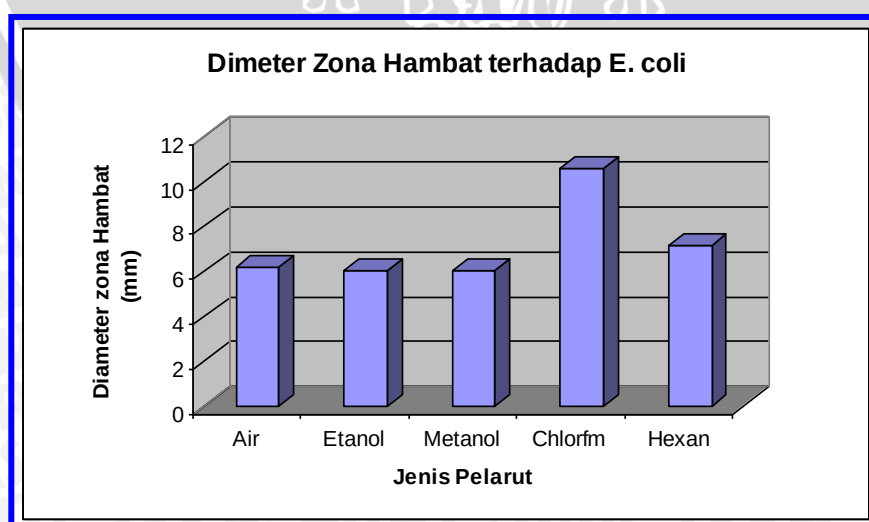
Hasil ekstraksi dari pelarut heksan yang merupakan pelarut non polar mendapatkan larutan ekstrak yang berwarna kuning. Hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut kloroform yang juga merupakan pelarut non polar mendapatkan hasil ekstrak yang berwarna coklakt kehitaman yang bening. Hasil ekstrak dari pelarut metanol dan etanol yang merupakan pelarut polar menghasilkan larutan ekstrak berwarna kuning dan sedikit keruh. Sedangkan hasil dari ekstraksi menggunakan air yang juga merupakan pelarut non polar adalah larutan yang berwarna abu-abu keruh.

4.2.2 Aktivitas Antibakteri

Uji cakram dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang diduga terdapat pada spoge segar. Bakteri ujinya digunakan *E. coli* dan *Vibrio harveyi* karena kedua bakteri ini sama-sama bersifat patogen. *E.coli* merupakan penyebab penyakit diare pada manusia sedangkan *Vibrio harveyi* merupakan penyebab penyakit yang umum menyerang ikan dan udang.

Aktivitas antibakteri diamati sebagai diameter zona hambatan (mm) yang disebabkan oleh ekstrak sponge *Geodia* sp. dengan pelarut heksana, kloroform, etanol, metanol, dan air terhadap bakteri uji *E. coli* dan *Vibrio harveyi*. Dari hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak sponge kasar memiliki aktivitas anti bakteri terhadap *E. coli* maupun *Vibrio harveyi*. Hal ini dapat diamati dari timbulnya zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening di sekitar kertas cakram menandakan bahwa tidak adanya bakteri yang mampu tumbuh setelah diinkubasi dikarenakan adanya senyawa antibakteri pada daerah tersebut. Namun demikian, penggunaan pelarut yang berbeda untuk mengekstrak senyawa antibakteri pada spoge memberikan pengaruh yang berbeda pula terhadap diameter zona hambat atau zona bening yang timbul di sekitar kertas cakram.

4.2.2.1 Aktivitas Antibakteri Terhadap *E. coli*



Gambar 7. Grafik kombinasi jenis pelarut dengan diameter zona hambat *E.coli*

Grafik di atas menunjukkan bahwa diameter zona hambat paling tinggi adalah ekstrak yang diekstraksi menggunakan pelarut kloroform. Berdasarkan data dari tabel 5, menunjukkan bahwa diameter zona hambatan ekstrak sponge segar terhadap bakteri uji *E. coli* berkisar antara 6,025 mm hingga 10,56 mm.

Tabel 7. Analisis Sidik Ragam anova Hasil Uji Cakram terhadap *E. coli*

SK	db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	60,21912	15,05478	491,3696	3,06	4,89
Galat	15	0,459576	0,0306384			
Total	19	60,678696				

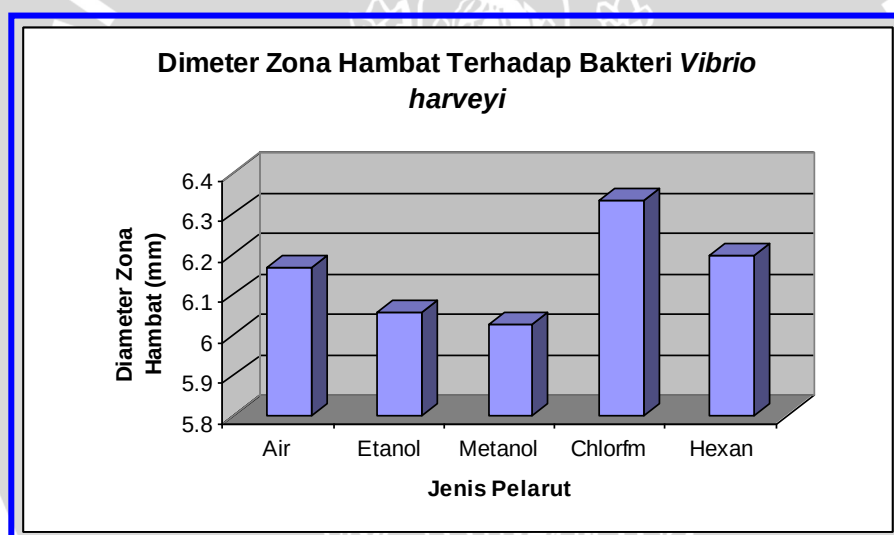
Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel\ 5\ \%}$ ($491,3696 > 3,06$). Penggunaan pelarut yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter zona hambat terhadap bakteri *E. Coli*.

Dari hasil penelitian, ekstrak sponge segar dengan pelarut chloroform memiliki diameter zona hambatan paling tinggi terhadap bakteri *E. coli* dari pada hasil ekstrak sponge segar dengan menggunakan pelarut yang lain. Rata-rata diameter zona penghambat tertinggi adalah 10,56 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak sponge segar dengan pelarut kloroform memiliki daya anti bakteri paling tinggi terhadap bakteri *E. coli*.

Ekstrak sponge segar dengan pelarut heksan juga menghasilkan diameter zona hambat yang cukup tinggi meskipun tak setinggi diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak sponge segar dengan pelarut kloroform. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak sponge dengan pelarut heksan adalah 7,148 mm. Sedangkan untuk ekstrak sponge dengan pelarut etanol, metanol, dan air tidak terlalu efektif untuk mengekstrak antibakteri pada sponge. Hal ini dapat dilihat dari diameter zona hambat yang tidak terlalu tinggi yang berkisar antara 6,025 - 6,163 mm.

Menurut Wibowo, dkk (2008), standart diameter zona hambat yang dapat dikatakan efektif menghambat adalah yang memiliki diameter > 11 mm, dikatakan intermediete jika memiliki diameter zona hambat 9-11 mm dan dikatakan tidak efektif jika memiliki diameter zona hambata < 9 mm. Jika dibandingkan dengan standart tersebut maka ekstrak sponge *Giodea* sp. segar yang diekstrak dengan pelarut heksan, etanol, metanol dan air tidak efektif dalam menghambat bakteri *E. coli* sedangkan ekstrak yang diekstraksi dengan pelarut kloroform cukup efektif untuk menghambat bakteri *E. coli*.

4.2.2.2 Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio harveyi*



Gambar 8. Grafik kombinasi jenis pelarut dengan diameter zona hambat *Vibrio harveyi*

Grafik di atas menunjukkan bahwa diameter zona hambat paling tinggi adalah ekstrak yang diekstraksi menggunakan pelarut kloroform yaitu 6,330 mm., Berdasarkan data dari tabel 6, menunjukkan bahwa diameter zona hambatan ekstrak sponge segar terhadap bakteri uji *Vibrio harveyi* berkisar antara 6,025 mm hingga 6,033 mm.

Tabel 8. Analisis Sidik Ragam anova Hasil Uji Cakram terhadap *Vibrio harveyi*

SK	db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	0,23688	0,05922	9,20995	3,06	4,89
Galat	15	0,09640	0.00643			
Total	19	0,33328				

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan F hitung > F tabel 5 % ($9,20995 > 3,05$). Penggunaan pelarut yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter zona hambat terhadap bakteri *Vibrio harveyi*.

Berdasarkan standar diameter zona hambat oleh Wibowo, dkk (2008), dapat disimpulkan bahwa semua ekstrak yang dihasilkan oleh pelarut heksan, kloroform, etanol, metanol, dan air tidak efektif dalam menghambat bakteri *Vibrio harveyi* karena memiliki diameter zona hambat di bawah 9 mm.

Kemampuan antimikroba dalam memberikan penghambatan terhadap mikroorganisme sangat bergantung pada konsentrasi dan kandungan senyawanya. Pada dasarnya mekanisme menghambat mikroorganisme oleh antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya: 1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel; 2) peningkatan permeabilitas membrane sel; 3) menginaktivasi enzim; dan 4) kerusakan fungsi material genetik (Ardiansyah, 2007).

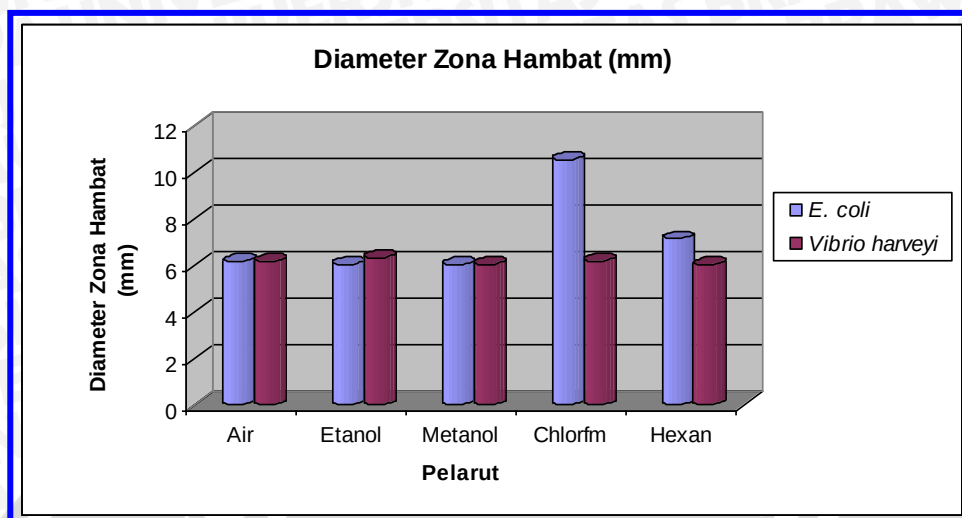
Harborne (1987), menjelaskan bahwa kloroform biasanya digunakan untuk mengekstraksi terpenoid. Menurut Lenny (2006), Minyak atsiri pada awalnya dikenal dengan penentuan struktur secara sederhana, yaitu dengan perbandingan atom hidrogen dan atom karbon dari suatu senyawa terpenoid yaitu 8:5 dengan perbandingan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid. Terpen dan terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang virus, dan protozoa. Mekanisme

penghambatannya diduga melalui perusakan lipibilayer membran sel akibat gugus lipofilik yang dimilikinya. Jadi, dapat ditarik kesimpulan bahwa antibakteri yang terekstrak oleh pelarut kloroform adalah senyawa terpenoid dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak membran sel.

Menurut Jawetz (2009), Kemampuan membran luar untuk mengeluarkan molekul hidrofobik merupakan ciri yang tidak biasa pada membran biologik dan merupakan perlindungan bagi sel terhadap garam empedu. Karena sifat lipidnya, membran luar diharapkan dapat mengeluarkan molekul hidrofilik dengan baik. Membran luar memiliki saluran khusus, yang terdiri dari molekul protein yang disebut porin, yang dapat meloloskan difusi pasif dari beberapa molekul hidrofilik dengan berat rendah, misalnya gula, asam amino, dan ion tertentu. Molekul antibiotik yang besar menembus membran luar dengan sangat lambat, sehingga bakteri gram negatif relatif sangat tahan terhadap antibiotik. Permeabilitas membran luar bakteri gram negatif sangat bervariasi antara spesies yang satu dengan yang lain; misal membran luar *Pseudomonas aeruginosa*, sangat kebal terhadap bahan antibakteri, mempunyai permeabilitas 100 kali lebih rendah dibanding *E. coli*.

E. coli memiliki permeabilitas membran lebih tinggi dari daripada bakteri lain termasuk *Vibrio harveyi* sehingga memungkinkan dapat dengan mudah meloloskan difusi pasif dari senyawa antibakteri. Sehingga senyawa antibakteri yang bersifat lipofilik dapat dengan mudah merusak atau mengganggu selektivitas membran sel dan akan mengakibatkan kebocoran atau keluarnya organel dari dalam sel dan menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, bakteri *Vibrio harveyi* lebih tahan terhadap antibiotik daripada *E. Coli* karena memiliki permeabilitas membran yang lebih rendah.

4.2.3 Pelarut Terbaik



Gambar 9. Grafik kombinasi jenis pelarut dengan diameter zona hambat *E. coli* dan *Vibrio harveyi*

Grafik di atas menunjukkan bahwa kloroform merupakan pelarut terbaik yang dapat mengekstrak kandungan bioaktif yang terdapat pada *Geodia* sp. segar sehingga menghasilkan diameter zona hambat yang cukup luas terhadap bakteri uji *E. coli* maupun *Vibrio harveyi*.

Kloroform merupakan pelarut yang bersifat non polar. Seperti dinyatakan oleh Vogel (1987), bahwa pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar, dan bagi senyawa non-polar larut dalam pelarut non polar. Dengan kata lain, metabolit sekunder yang terdapat pada sponge yang bersifat sebagai antibakteri kemungkinan besar bersifat non polar.

Indeks polaritas suatu bahan juga mempengaruhi efektivitas ekstraksi. Suatu pelarut cenderung dapat menarik senyawa yang memiliki indeks polaritas yang hampir sama dengan indeks polaritas yang dimiliki pelarut itu sendiri. Berikut adalah daftar indeks polaritas yang dimiliki suatu bahan.

Tabel 9. Daftar Indeks Polaritas Bahan

Polarity Index	Solvent
0	Heptane
0	Hexane
0	Pentane
0.2	Cyclohexane
1	Trichloroethylene
1.6	Carbon Tetrachloride
2.2	Di-Iso-Propyl Ether
2.4	Toluene
2.5	Methyl-t-Butyl Ether
2.5	Xylene
2.7	Benzene
2.8	DiEthyl Ether
3.1	Dichloromethane
3.5	1,2-Dichloroethane
3.9	Butyl Acetate
3.9	Iso-Propanol
4	n-Butanol
4	Tetrahydrofuran
4	n-Propanol
4.1	Chloroform
4.4	Ethyl Acetate
4.7	2-Butanone
4.8	Dioxane
5.1	Acetone
5.1	Methanol
5.2	Ethanol
5.8	Acetonitrile
6.2	Acetic Acid
6.4	Dimethylformamide
7.2	Dimethyl Sulfoxide
9	Water

Sumber: www.Phenomenex.com

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa indeks polaritas yang dimiliki kloroform adalah 4,1. Dengan demikian diperkirakan senyawa – senyawa yang terekstrak oleh pelarut kloroform dan terdapat banyak di *Geodia* sp. adalah

senyawa-senyawa yang memiliki indeks polaritas yang sama atau mendekati 4,1.

Oleh karena itu dilakukan analisis GCMS untuk mengetahui hal tersebut.

4.2.5 Analisis GC-MS

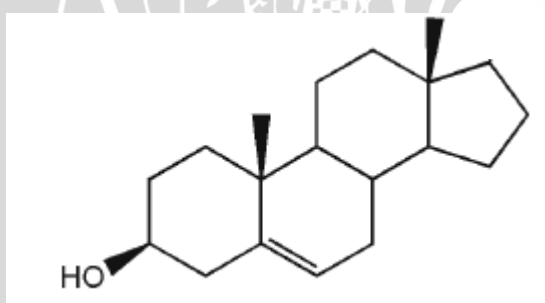
Bahwa bahan aktif antibakteri yang dikatakan aktif dan berpotensi yaitu yang mempunyai daerah hambatan lebih besar dari 10 mm (Lestari, 2006). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak sponge yang paling potensial sebagai anti bakteri adalah hasil ekstraksi menggunakan kloroform. Hal ini dapat dilihat dari tingginya diameter zona hambat pada uji cakram baik terhadap bakteri *E. coli* yang mencapai rata-rata 10,56 mm. Oleh karena itu, ekstrak tersebut diteliti lebih lanjut untuk mengetahui senyawa dominan yang terkandung di dalamnya.

Tabel 10. Kandungan Bioaktif dalam *Giodea* sp. segar

No. puncak	Rumus molekul	Nama	BM	(%)	SI
1.	C ₂₁ H ₃₆	14B-Pregnane	288	1,09	90
2.	C ₂₉ H ₆₀	Nonacosane	408	1,39	81
3.	C ₁₆ H ₂₇ NO ₄	1,3 Cyclohexadecanodiane, 6 - nitro	297	0,99	77
4.	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	2,3-epoxy-2,6,6-trimethyl-cycloheptan	168	0,67	71
5.	C ₂₁ H ₃₆	14-beta-pregna	288	0,62	86
6.	C ₁₃ H ₂₈	Nonane, 4-methyl-5-propyl	184	2,94	83
7.	C ₁₆ H ₃₄ O	Dinocetyl ether	242	5,54	83
8.	C ₁₃ H ₂₈	Nonane, 4-methyl-5-propyl	184	7,42	84
9.	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	Andros-4-en-3-one	330	34,06	78
10.	C ₃₀ H ₅₀	Friedoolea-6-one	410	0,67	59
11.	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	Methyl 18-isopimaranoate	320	8,39	71
12.	C ₂₆ H ₄₃ O ₂ P	Phosphonous acid	418	7,01	69
13.	C ₁₅ H ₂₂ BR	Cycloisolongifolen	282	2,69	72
14.	C ₁₅ H ₂₄ O	Longifolenaldehyde	220	5,79	78
15.	C ₃₀ H ₅₀ O	Urs-12-en-ol	426	2,77	77
16.	C ₁₄ H ₂₄	1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadiene	192	17,96	75

Kromatogram GC-MS dan senyawa-senyawa hasil identifikasi GC-MS ekstrak sponge *Geodia* sp. dengan pelarut kloroform, disajikan pada lampiran 4. Sebanyak 16 senyawa teridentifikasi pada ekstrak *Geodia* sp. segar dengan pelarut kloroform. Dari ke-16 senyawa yang teridentifikasi, terdapat dua senyawa yang paling dominan.

Senyawa yang pertama adalah Androst-4-en-3-one sebesar 34,06% yang memiliki rumus $C_{19}H_{28}O_2$ dengan berat molekul 330 dan similar index 78. Senyawa ini merupakan kelompok steroid. Percobaan-percobaan biogenetik menunjukkan bahwa steroid yang terdapat di alam berasal dari triterpenoid. Steroid yang terdapat dalam jaringan hewan berasal dari triterpenoid lanosterol setelah triterpenoid ini mengalami serentetan perubahan tertentu. Tahap-tahap awal dari biosintesa steroid adalah sama bagi semua steroid alam yaitu pengubahan asam asetat melalui asam mevalonat dan skualen (suatu triterpenoid) menjadi lanosterol dan sikloartenol.



Gambar 10. Lanosterol

Berdasarkan struktur umum steroid, maka jenis-jenis hidrokarbon induk dari steroid adalah sebagai berikut: (Lenny, 2006).

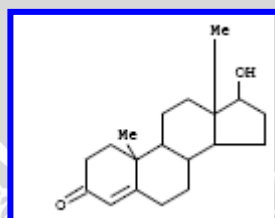
Tabel 11. Jenis steroid

Nama	Jumlah atom C	Jenis rantai samping (R)
Androstan	19	-H
Pregnan	21	$-CH_2CH_3$
Kolan	24	$-CH(CH_3)(CH_2)_2CH_3$
Kolestan	27	$-CH(CH_3)(CH_2)_3CH(CH_3)_2$

Ergosten	28	$-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
Srigmastan	29	$-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

Sumber: Lenny, 2006

Steroid bersifat nonpolar, karena steroid merupakan suatu lipid karakter non-plarnya memungkinkan untuk melewati membran sel (Sarker dan Nahar, 2009). Ditambahkan oleh Solis, G, dkk (2004), Terdapatnya gugus OH pada senyawa ini yang notabene merupakan gugus reaktif dan dapat menyebabkan ketidakstabilan membran plasma dari bakteri dan merusak membran tersebut hingga terjadi kematian.

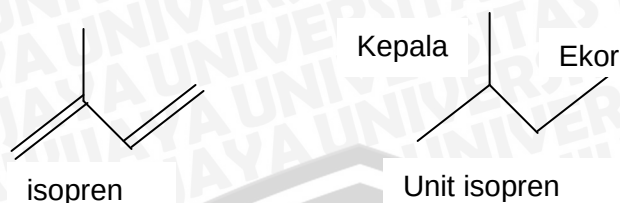


Gambar 11. Androst-4-en-3-one, 17-hydroxy-, (17 beta-(CAS) testosterone

Senyawa yang kedua diduga 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine yang memiliki luas area 17,96%, memiliki rumus molekul $\text{C}_{14}\text{H}_{24}$ dengan berat molekul 192. Dalam wikipedia (2010), diterangkan bahwa bentuk cyclohexadine ditemukan pada beberapa produk alami seperti α - terpinene. Terpinene adalah tiga isomerik hidrokarbon yang diklasifikasikan sebagai terpena. Masing-masing memiliki rumus molekul dan kerangka karbon yang sama, tetapi memiliki posisi karbon-karbon ikatan ganda yang berbeda.

Pada dasarnya golongan terpenoid dikenal dengan penentuan struktur secara sederhana, yaitu dengan perbandingan atom hidrogen dan atom karbon 8:5. Sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atom atau lebih unit C-5 yang disebut unit isopren. Unit C-5 ini dinamakan

demikian karena kerangka karbonnya sama seperti senyawa isopren (Lenny, 2006).



Berdasarkan jumlah atom karbonnya, terpenoid dapat dikelompokkan sebagai berikut:

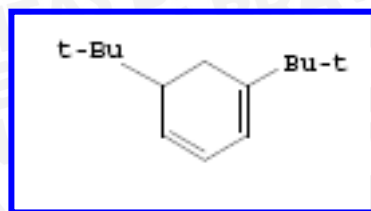
Tabel 12. Jenis-Jenis Terpenoid

No.	Jenis senyawa	Jumlah atom karbon
1.	Monoterpenoid	10
2.	Seskueterpenoid	15
3.	Diterpenoid	20
4.	Triterpenoid	30
5.	Tetraterpenoid	40
6.	Politerpenoid	≥ 40

Sumber: Lenny, 2006

Berdasarkan tabel di atas, dapat diketahui bahwa senyawa kedua yang paling dominan yang terdeteksi melalui GCMS ini adalah kelompok monoterpenoid karena memiliki rumus molekul $C_{14}H_{24}$.

Terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang virus, dan protozoa. Mekanisme penghambatan diduga melalui perusakan lipibilayer membran sel akibat gugus lipofilik yang dimilikinya (Cowan, 1099). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gunawan, dkk (2008) bahwa senyawa terpenoid yang diekstraksi dari herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) dapat menghambat bakteri *E. coli* dengan luas hambatan 10 mm. Selain itu, Batista *et al.*, (1994) dalam Putra (2007) melaporkan bahwa diterpena yang diisolasi dari tanaman *Plectranthus hereroensis* efektif terhadap *S. Aureus* *V. Cholera* dan *Candida* sp.



Gambar 12. 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadiene

Selain dua senyawa dominan di atas, terdapat 14 senyawa lainnya yang juga terdeteksi oleh GCMS. Beberapa adalah golongan steroid seperti pregnan yang memiliki rumus molekul $C_{21}H_{36}$. Pregnan memiliki gugus OH seperti halnya steroid yang lain. Menurut Solis, G, dkk (2004), Terdapatnya gugus OH menyebabkan ketidakstabilan membran plasma dari bakteri dan merusak membran tersebut hingga terjadi kematian.



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kasar karang lunak *Geodia* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *Vibrio Harveyi*.
2. Penggunaan pelarut yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter zona hambatan pada uji cakram. Pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak metabolit sekunder yang bersifat antibakteri pada *Geodia* sp. adalah kloroform.
3. Hasil analisis GC-MS, diidentifikasi 16 senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada karang lunak *Geodia* sp, 2 yang paling dominan adalah Androst-4-en-3-one sebesar 34,06% dan 1,5-di-tert-butyl-1,3-cyclohexadine yang memiliki luas area 17,96% .

6.1 Saran

Ekstrak karang lunak *Geodia* sp. Yang diekstraksi dengan pelarut kloroform terbukti dapat menghambat *E. coli* secara efektif. Sehubungan dengan hal tersebut maka disarankan:

1. Penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri dari *Geodia* sp. Dengan pelarut kloroform terhadap bakteri *E. Coli* secara *in vivo*.
2. Penelitian lebih lanjut untuk pengaplikasian secara nyata untuk produk-produk pangan ataupun kepada manusia.
3. Dilakukan partisi untuk ekstrak kloroform.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, T., E. Suryati., and Muliani. 1995. Sponge bioactive screening for bactericide in shrimp culture. *Indonesia Fisheries Research Journal*. Vol. 1 (1): 1-10.
- Anonymous. 2010. Air. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 April 2010.
- _____. 2010. Etanol. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 April 2010.
- _____. 2010. Heksana. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 April 2010.
- _____. 2010. Kloroform. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 April 2010.
- _____. 2010. Metanol. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 April 2010.
- _____. 2009. *E.Coli*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 April 2009.
- _____. 2007. Pelarut. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 9 Oktober 2009.
- _____. 2006. Gas Kromatography Mass Spektrometer. [Http://www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org).
- Bhakuni, D.S dan D.S, Rawat. 2005. Bioactive Marine Natural Product. Springer. India.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet and M. Wooton. 2007. Ilmu Pangan. Universitas Indonesia-Press. Jakarta.
- Cannell, R. 1998. Natuural Product Isolation. Humana Press. New Jersey.
- Solis, G., J, Becerra., G, Flores., J, Robledo., dan M, Silva. 2004. Antibacterial and Antifungal Terpen from *Pilgerodendron univerum* (D. Don) Florin. Journal of the Chilean Chemistry Society. Chile
- Cowan, M.M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. Clin. Microbial. Rev. 12 (4): 54-582
- Day, R.A and Underwood. 1999. Analisis Kimia Kuantitatif. Penerbit Erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Gandjar, I.G dan A, Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

Guether, E. 1987. Minyak Atsiri I. Penerbit UI. Jakarta. Diterjemahkan S. Ketaren.

Gunawan IW, G., I G . A. Gede Bawa., dan N. L. Sutrisnawti. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Atif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. ISSN 1907-9850.

Gusrina. 2008. Budidaya Ikan Jilid 1. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.

Harborne, JB. 2006. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh: Padmawinata, K dan I, Soediro. Penerbit ITB. Bandung.

Isnansetyo, A., Trijoko., E.P, Setyowati dan H.H, Anshory. 2009. *In Vitro* Antibacterial of Methand Extract of A Sponge, *Geodia* sp. Against Oxytetracycline Resistent *Vibrio harveyi* and its Toxicity. Journal of Biological Science 9 (3): 224-230.

Komara, A. 1991. Mempelajari Ekstraksi Oleoresin dan Karakteristik Mutu Oleoresin dari Bagian Cabe Rawit dalam Anam C. 2000. Ekstraksi Oleoresin Jahe Kajian Dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.

Lay, B.H. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Lenny, S. 2006. Senyawa Terpenoid dan Steroid. Universitas Sumatera Utara. Medan

Liqun, Y., L.I Pengcheng., F. Shoujin. 2008. The extraction of pigments from fresh *Laminaria japonica*. Chinese Journal of Oceanology and Limnology. Vol. 26 No. 2, P. 193-196, 2008.

Nazir, M. 1989. Metode Penelitian. PT. Ghalia Indonesia. Jakarta.

Putra, I. N. K. 2007. Studi Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.

Purseglove, J.W., E.G Brown., C.L Green and S.R.J Robbin. 1981. Spices. Longman Singapore Publ. Singapore.

Roth, H. J. and Blaschke, G. 1985. Analisis Farmasi. Alih Bahasa: Dr. Sarjono Kisman. Gadjah Mada University Press.

Satari, R dan A, Kadi,. 1994. Aktivitas Antibakteri Sponge Asal Pulau Pari. Laboratorium Produk Alam Laut Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor.

Sjogren, M. 2006. Bioactive Compounds from the Marine Sponge *Geodia baretii*. UPPSALA Universitet. Swedia.

Sudarmadji.S.B, Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.

Suharyanto. 2008. Distribusi dan Persentase Tutupan Sponge (Porifera) pada Kondisi Terumbu Karang dan Kedalaman yang Berbeda di Perairan Pulau Barranglompo, Sulawesi Selatan. Jurnal Biodiversitas Volume 9, Nomor 3, Halaman: 209-212. Surakarta.

Suparno. 2005. Kajian Demospongiae Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia dalam Dibidang Farmasi. Makalah Pribadi Falsafah Sains (PPS 7002). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Suryandari, S. 1981. Pengambilan Oleoresin Jahe Dengan Cara Solvent Extraction. Buletin IHP I. BBIHP. Bogor.

Susanto, W.H. 1999. Teknologi Lemak dan Minyak Makan. Jurusan THP Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

Syamsir, E. 2008. Kasus *Vibrio Parahaemolyticus* di dalam Seafood. <http://www.ilmupangan.blogspot.com>. Diakses tanggal 9 Oktober 2009.

Tomascik, T., A, Janice., A, Nontji., dan M, Moosa. 1997. The Ecology of Indonesian Seas. Periplus edition Ltd. Hongkong.

Violy, A. 2010. *Vibrio harveyi*. Antip3blogspot.com

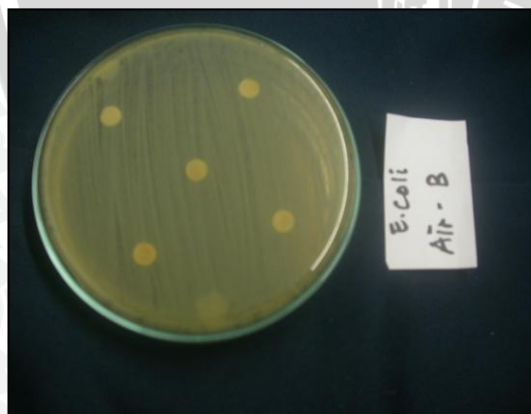
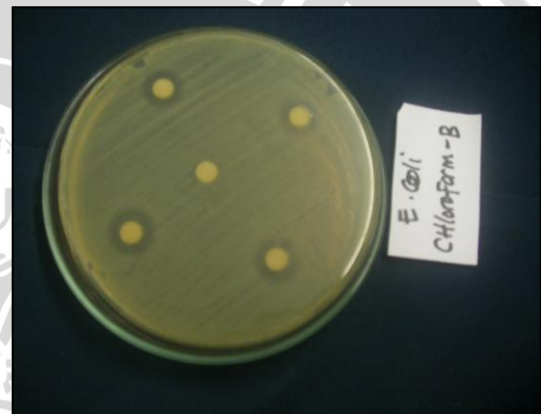
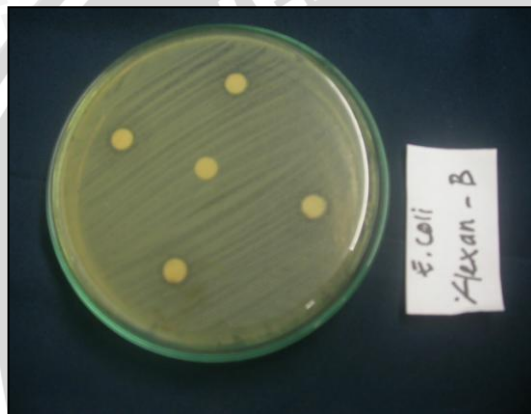
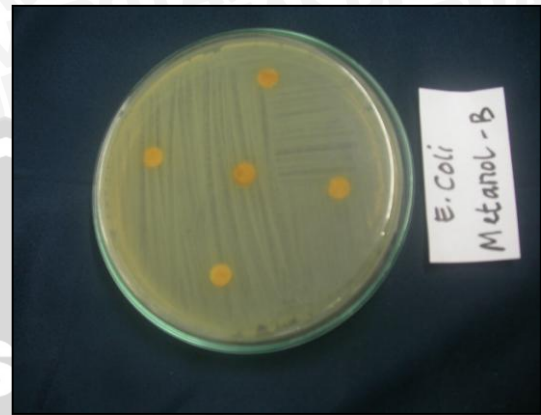
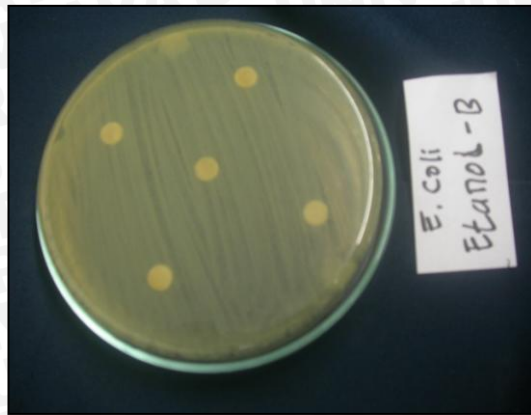
Vogel, A.I 1987. Textbook of Practical Organic Chemistry. Revised by Furnies B.S. 4nd Edition. New York.

Voight, R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Diterjemahkan Soendani. Dan Setiono.

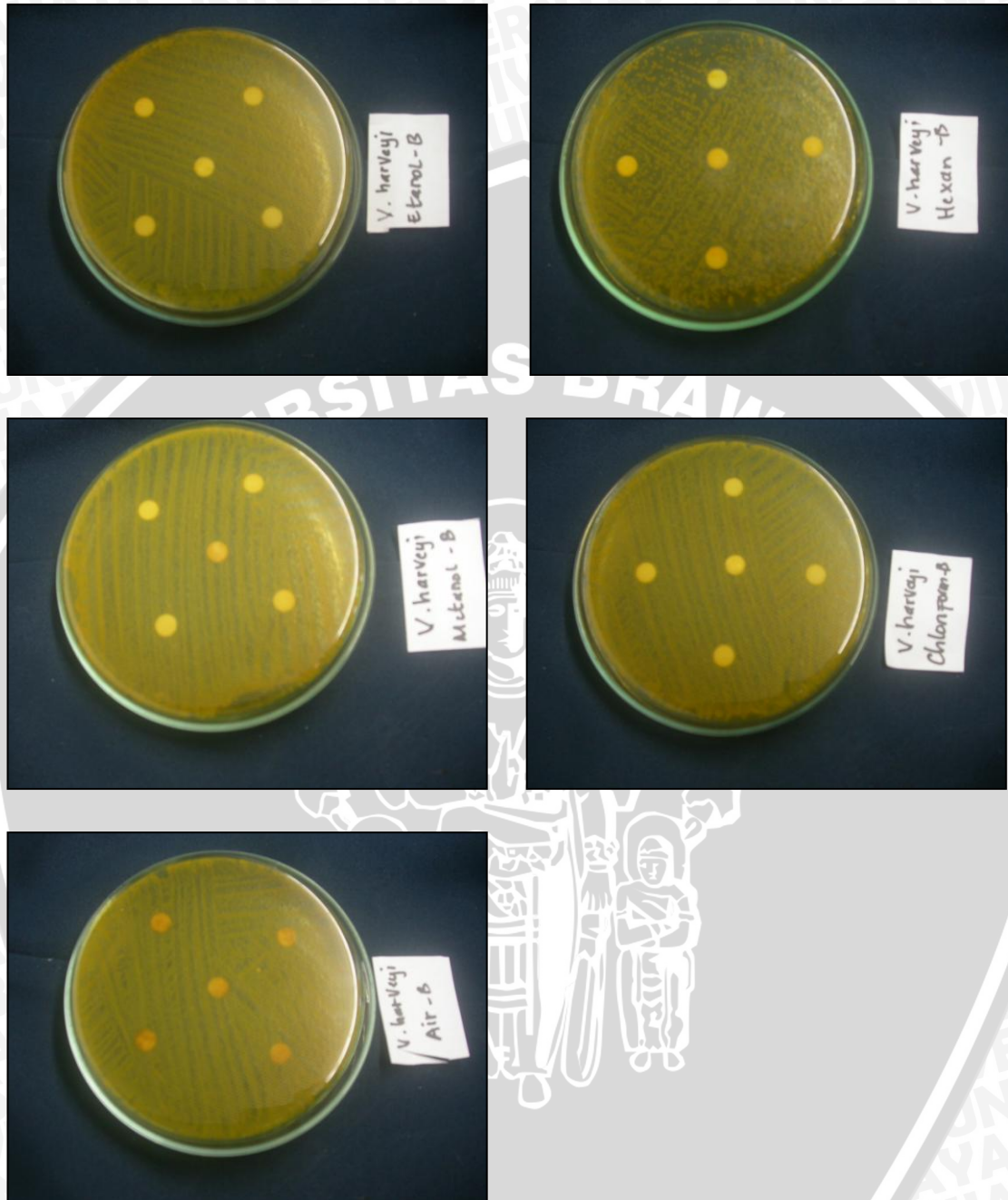
Wibowo, W., J, gumilar., M, Alamsyah. 2008. Standart Parameter Potensi Antibiotik dalam Tinjauan Mikrobiologi. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Wiyanto, D. B. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Lampiran 1. Hasil Uji Cakram Terhadap Bakteri Uji *E. coli*



Lampiran 2. Hasil Uji Cakram Terhadap Bakteri Uji *Vibrio harveyi*



Lampiran 3. Analisis Sidik Ragam

1. Hasil Uji Cakram terhadap *E. coli*

Pelarut	Zona Hambat					Total	Rerata
	Kontrol	I	II	III	IV		
Air	6,00	6,34	6,08	6,12	6,12	24,66	6,165
Chlorfm	6,01	10,42	11,10	10,44	10,28	42,24	10,56
Etanol	6,00	6,06	6,06	6,08	6,02	24,22	6,055
Hexan	6,00	7,12	7,23	7,15	7,09	28,59	7,148
Metanol	6,00	6,02	6,01	6,05	6,02	24,1	6,025
Total		35,96	36,48	35,84	35,53	143,81	

Hipotesis:

H₀ = T₁=T₂=T₃=T₄=T₅=0

H₁ = paling tidak ada sepasang T₁ yang tidak sama

$$FK = \frac{(\sum \text{total})^2}{n} = \frac{143,81^2}{20} = 1034,065805$$

JK total = Jumlah kuadrat masing - masing pengulanga n - FK

$$= (6,34^2 + 6,08^2 \dots + 24,1^2) - 1034,065805 = 60,678695$$

$$JK \text{ perlakuan} = \frac{(24,66^2 + 42,24^2 + 24,22^2 + 28,59^2 + 24,1^2)}{4} - 1034,065805$$

$$= 1094,284925 - 1034,065805 = 60,21912$$

JK galat = JK total - JK perlakuan

$$= 60,678696 - 60,21912 = 0,459576$$

Anova

SK	db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	60,21912	15,05478	491,3696	3,06	4,89
Galat	15	0,459576	0,0306384			
Total	19	60,678696				

Kesimpulan : F hitung > F tabel

: Terima H1, paling tidak ada sepasang T1 yang tidak sama

Interpretasi: penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap efektivitas proses ekstraksi antibakteri pada sponge. Perbedaan diameter zona hambat menandakan semakin banyak zat antibakteri yang berhasil diestrak dan semakin efektif aktivitas antibakterinya.

Menentukan pelarut mana yang paling potensial

a. BNT 5%

$$BNT_a = t_a \times \sqrt{\frac{2S^2}{\text{ulangan}}}$$

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0,0306384}{4}}$$

$$= 2,131 \times 0,124 = 0,264$$

b. BNT 1%

$$BNT_{0,01} = t_{0,01(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0,0306384}{4}}$$

$$= 2,947 \times 0,124 = 0,365$$

Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata	Metanol (6,025)	Etanol (6,055)	Air (6,165)	Heksan (7,148)	Kloroform (10,560)
Metanol (6,025)	-	0,030	0,140	1,123*	4,535*
Etanol (6,055)	-	-	0,110	1,093*	4,505*
Air (6,165)	-	-	-	0,983*	4,395*
Heksan (7,148)	-	-	-	-	3,412*
Kloroform (10,56)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,05} = 0,264)	a	a	a	b	c

Kolom Notasi BNT 1%

Rata-rata	Metanol (6,025)	Etanol (6,055)	Air (6,165)	Heksan (7,148)	Kloroform (10,560)
Metanol (6,025)	-	0,030	0,140	1,123*	4,535*
Etanol (6,055)	-	-	0,110	1,093*	4,505*
Air (6,165)	-	-	-	0,983*	4,395*
Heksan (7,148)	-	-	-	-	3,412*
Kloroform (10,56)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,01} = 0,365)	a	a	a	b	c

Ket: * = nilai tengah > BNT_{0,05}

Perlakuan	Rata-rata (mm)	Notasi atas BNT 0,05	Notasi BNT 0,01
Metanol	6,025	a	a
Etanol	6,055	a	a
Air	6,165	a	a
Heksan	7,148	b	b
Kloroform	10,56	c	c

Kesimpulan:

Urutan pelarut terbaik untuk mengekstrak senyawa aktif antibakteri dalam *Geodia* sp. adalah kloroform kemudian heksan, sedangkan pelarut air, etanol dan metanol sama-sama tidak efektif untuk mengekstrak senyawa aktif antibakteri dalam *Geodia* sp.



2. Hasil Uji Cakram Bakteri *VibrioHarveyi*

Pelarut	Diameter Zona Hambat (mm)					Total	Rerata
	Kontrol	I	II	III	IV		
Air	6,00	6,34	6,08	6,12	6,12	24,66	6,165
Chlorfm	6,01	6,42	6,20	6,42	6,28	25,32	6,330
Etanol	6,00	6,06	6,06	6,08	6,02	24,22	6,055
Hexan	6,00	6,12	6,23	6,15	6,28	24,78	6,195
Metanol	6,00	6,02	6,01	6,05	6,02	24,10	6,025
Total	6,00	30,96	30,58	30,82	30,72	123,08	

Hipotesis:

H0= T1=T2=T3=T4=T5=0

H1= paling tidak ada sepasang T1 yang tidak sama

$$FK = \frac{(\sum \text{total})^2}{n} = \frac{123,08^2}{20} = 757,43432$$

JK total = Jumlah kuadrat masing - masing pengulanga n - FK

$$= (6,34^2 + 6,08^2 \dots + 6,02^2) - 757,43432 = 0,33328$$

$$JK \text{ perlakuan} = \frac{(24,66^2 + 25,32^2 + 24,22^2 + 24,78^2 + 24,1^2)}{4} - 757,43432$$

$$= 757,6712 - 757,43432 = 0,23688$$

JK galat = JK total - JK perlakuan

$$= 0,33328 - 0,23688 = 0,0964$$

Anova

SK	db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	0,23688	0,05922	9,20995	3,06	4,89
Galat	15	0,09640	0.00643			
Total	19	0,33328				

Kesimpulan : F hitung> F tabel

Kesimpulan : F hitung> F tabel

: Terima H1, paling tidak ada sepasang T1 yang tidak sama

Interpretasi: penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap efektivitas proses ekstraksi antibakteri pada sponge. Perbedaan diameter zona hambat menandakan semakin banyak zat antibakteri yang berhasil diestrak dan semakin efektif aktivitas antibakterinya.

Menentukan pelarut mana yang paling potensial.

a. BNT 5%

$$BNT_a = t_a \times \sqrt{\frac{2S^2}{\text{ulangan}}}$$

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0.00643}{4}}$$

$$= 2,131 \times 0,05670 = 0,12083$$

b. BNT 1%

$$BNT_{0,01} = t_{0,01(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0.00643}{4}}$$

$$= 2,947 \times 0,05670 = 0,16709$$

Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata	Metanol (6,025)	Etanol (6,055)	Air (6,165)	Heksan (6,195)	Kloroform (6,330)
Metanol (6,025)	-	0,030	0,140*	0,170*	0,305*
Etanol (6,055)	-	-	0,110	0,140*	0,275*
Air (6,165)	-	-	-	0,030	0,165*
Heksan (6,195)	-	-	-	-	0,135*
Kloroform (6,330)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,05} = 0,12083)	a	a	b	c	d

Kolom Notasi BNT 1%

Rata-rata	Metanol (6,025)	Etanol (6,055)	Air (6,165)	Heksan (6,195)	Kloroform (6,330)
Metanol (6,025)	-	0,030	0,140	0,170*	0,305*
Etanol (6,055)	-	-	0,110	0,140	0,275*
Air (6,165)	-	-	-	0,030	0,165
Heksan (6,195)	-	-	-	-	0,135
Kloroform (6,330)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,01} = 0,16709)	a	a	a	b	c

Ket: * = nilai tengah > BNT_{0,05}

Perlakuan	Rata-rata (mm ²)	Notasi atas BNT 0,05	Notasi BNT 0,01
Metanol	6,025	a	a
Etanol	6,055	a	a
Air	6,165	b	a
Heksan	6,195	c	b
Kloroform	6,330	d	c

Kesimpulan:

Urutan pelarut terbaik untuk mengekstrak senyawa aktif antibakteri dalam *Geodia* sp. adalah kloroform kemudian heksan, sedangkan pelarut air, etanol dan metanol sama-sama tidak efektif untuk mengekstrak senyawa aktif antibakteri dalam *Geodia* sp.



Lampiran 4. Hasil Analisis GC-MS



































Lampiran 5. Dokumentasi Proses Penelitian



Gambar 1. Sponge (*Geodia* sp.) di habitat aslinya



Gambar 2. Pengambilan Sponge



Gambar 3. Di cuci dan di angin-anginkan



Gambar 4. Sponge yang telah dihaluskan



Gambar 5. Proses maserasi



Gambar 6. Proses Penyaringan



Gambar 7. Proses pengentalan dengan rotari



Gambar 8. Ekstrak sponge kasar

Lampiran 6. Instrumen GC-MS (GC-MS QP2010S SHIMADZU)

