

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK KARANG
LUNAK (*Geodia sp.*) KERING TERHADAP BAKTERI
Escherechia coli DAN *Vibrio harveyi***

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

Oleh:

**DENOK EKA YULIANA
NIM. 0610830031**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK KARANG
LUNAK (*Geodia sp.*) KERING TERHADAP BAKTERI
Escherechia coli DAN *Vibrio harveyi***

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

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:

**DENOK EKA YULIANA
NIM. 0610830031**



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

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK KARANG
LUNAK (*Geodia sp.*) KERING TERHADAP BAKTERI
Escherechia coli DAN *Vibrio harveyi***

Oleh :
DENOK EKA YULIANA
NIM. 0610830031

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

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas berkah dan rahmat-Nya, sehingga penulis bisa menyelesaikan Penelitian dan Laporan Skripsi ini yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Karang Lunak (*Geodia sp.*) Kering Terhadap Bakteri *Escherechia coli* Dan *Vibrio harveyi*”, untuk memperoleh gelar sarjana stars 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.*) kering 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.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapakan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Juli 2010

Penulis

RINGKASAN

DENOK EKA YULIANA. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Karang Lunak (*Geodia Sp.*) Kering Terhadap Bakteri *Escherechia Coli* Dan *Vibrio Harveyi* (Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Happy Nursyam, MS** dan **Ir. Yahya, MP**)

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 1999). Satari dan Kadi (1996) menambahkan, bahwa dalam sponge terdapat metabolit- metabolit antara lain senyawa terpen, 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 Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada bulan Oktober 2009 sampai Maret 2010.

Tahap pertama penelitian ini digunakan metode eksperimen. Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui aktifitas antibakteri ekstrak sponge *Geodia sp.* kering terhadap *Vibrio harveyi* dan *E. Coli* serta untuk mengetahui jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada sponge *Geodia sp.* Kering. 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.* kering dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS).

Dari hasil penelitian, Ekstrak sponge dengan pelarut kloroform lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dari pada bakteri *Vibrio harveyi* hal ini dapat dilihat dari rerata zona hambat mencapai 7,18 untuk bakteri *E.coli* dan 6,24 untuk bakteri *Vibrio harveyi*. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam sponge *Geodia sp.* kering dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GCMS) antara lain Hexadecanoic acid (CAS)/ Palmitic acid, Cholest-5-en-3-ol (3 beta)/ Kolesterol chloroformate, Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3 beta)/ Cholesteryl bromide , Ergosta-7, 22-dien-3-ol.

Ekstrak karang lunak *Geodia sp.* yang diekstraksi dengan pelarut kloroform terbukti dapat menghambat *E. coli* secara efektif. Maka, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk penggunaan atau aplikasi dari hasil ekstrak sponge *Geodia sp.* untuk bakterisidal dalam bahan pangan.

DAFTAR ISI

	Hal
SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN UCAPAN TERIMAKASIH	iv
HALAMAN RINGKASAN	vi
HALAMAN KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis Masalah	5
1.5 Kegunaan Penelitian	5
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Gambaran Umum Sponge (Karang Lunak)	6
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Sponge	6
2.1.2 Sistem Pencernaan	7
2.1.3 Sistem Pernapasan	8
2.1.4 Reproduksi	8
2.1.5 Budidaya Sponge	9
2.2 Senyawa Aktif Antibakteri Pada Sponge	11
2.3 <i>Geodia</i> sp.	12
2.4 <i>Escherichia coli</i>	13
2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi	13
2.4.2 Habitat dan Penyebaran	14
2.4.3 Metabolisme dan Pertumbuhan	14
2.4.4 Patogenitas	16
2.5 <i>Vibrio harveyi</i>	17
2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi	17
2.5.2 Habitat dan Penyebaran	18
2.5.3 Metabolisme dan Pertumbuhan	18
2.5.4 Patogenitas	19
2.6 Ekstraksi	20
2.7 Pelarut	21
2.7.1 Kloroform	24
2.7.2 Heksana	24
2.7.3 Etanol	25
2.7.4 Metanol	26
2.7.5 Air	27
2.8 Uji Aktivitas Antimikroba	28
2.8.1 Uji Cakram	28



2.8.2 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	29
2.9 Uji GCMS.....	31
3. METODE PENELITIAN	33
3.1 Bahan dan Alat.....	33
3.1.1 Bahan Utama Penelitian.....	33
3.1.2 Bahan Penunjang Penelitian	33
3.1.3 Alat Penelitian	33
3.2 Metode Penelitian.....	34
3.2.1 Metode.....	34
3.2.2 Variabel Penelitian	35
3.2.3 Rancangan Penelitian	35
3.3 Kerangka Operasional	37
3.4 Prosedur Penelitian.....	37
3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan.....	37
3.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	37
3.4.1.2 Pembuatan Media.....	38
3.4.1.3 Pemiakan Bakteri <i>E. Coli</i>	40
3.4.1.4 Pemiakan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	41
3.4.2 Pembuatan Ekstrak Sponge.....	41
3.4.3 Uji Cakram.....	42
3.5 Analisis GCMS.....	43
3.6 Parameter Uji.....	43
3.7 Analisa Data.....	43
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	44
4.1 Ekstraksi.....	44
4.2 Pemiakan Kultur Murni Bakteri.....	44
4.3 Aktivitas Antibakteri pada Uji Cakram.....	45
4.4 Intensitas Kepekaan Bakteri.....	49
4.5 Analisis GC-MS Ekstrak Sponge.....	51
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	57
5.1 Kesimpulan.....	57
5.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	66

1. 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).

Beberapa organisme laut mampu memproduksi senyawa kimia tersebut untuk mempertahankan dirinya dari serangan predator. Senyawa kimia dengan bioaktivitas menarik ini diduga dapat dimanfaatkan manusia khususnya di bidang pengobatan. Hasil penelitian menunjukkan banyak dari senyawa kimia tersebut berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri dan aktif menghambat pertumbuhan sel kanker serta bioaktivitas lainnya (Edrada, *et al.*, 2000).

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 1999).

Sponge mampu menyaring bakteri yang ada di sekitarnya, sebanyak 77% bakteri yang tersaring ini dimanfaatkan untuk makanan dan dicerna secara enzimatik. 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 (Barnes, 1990).

Bakteri yang digunakan sebagai indikator antimikroba adalah *Vibrio harveyi* dan *E.coli*. *E. coli* adalah salah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif (Wikipedia, 2009), merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan diameter 0.5 micrometer. Volume sel *E. coli* berkisar 0.6-0.7 micrometer kubik. Bakteri ini termasuk umumnya hidup pada rentang 20-40 derajat C, optimum pada 37 derajat. Dari sekian ratus strain *E. coli* yang teridentifikasi, hanya sebagian kecil bersifat patogen, misalnya strain O157:H7 (Yalun, 2008).

Vibrio harveyi adalah spesies Gram-negatif, bioluminescent, bakteri laut dalam genus *Vibrio*. *V. harveyi* adalah berbentuk batang, yang dapat bergerak (melalui kutub flagela), fakultatif anaerob, halophilik, dan kompeten untuk kedua fermentasi dan pernapasan metabolisme. Mereka tidak tumbuh pada 4 ° C atau di atas 35°C. *Vibrio harveyi* dapat ditemukan berenang bebas di perairan laut tropis, habitat dalam usus mikroflora dari laut hewan, dan sangat oportunistik patogen terhadap hewan laut (Wikipedia, 2010).

Infeksi *E.coli* O157:H7 yang patogen pada manusia yaitu yang bersifat verotoksigenik yang telah menyebabkan 16.000 kasus penyakit melalui makanan (*Food Borne Diseases*) dan 900 orang meninggal per tahun di AS, dengan perkiraan *annual cost* \$ 200,000 hingga \$ 600,000 (Sartika et al, 2005). Wikipedia menambahkan, dapat menyebabkan masalah kesehatan pada manusia, seperti diare, muntaber dan masalah pencernaan lainnya.

Sedangkan bakteri *Vibrio harveyi* melakukan serangan penyakit bakterial yang paling serius dan sering menyebabkan terjadinya kematian massal pada larva udang windu (Pedersen et al., 1998). Bakteri ini pada umumnya menyerang larva udang pada stadia zoea, mysis dan awal post larva (Rukyani et al., 1992)

sehingga merupakan kendala dalam penyediaan benih udang yang sehat dalam jumlah besar yang diperlukan untuk produksi udang.

Pemanfaatan spons laut sekarang ini cenderung semakin meningkat, terutama untuk mencari senyawa bioaktif baru dan memproduksi senyawa bioaktif tertentu. Pengumpulan spesimen untuk pemanfaatan tersebut, pada umumnya diambil secara langsung dari alam dan belum ada dari hasil budidaya. Cara seperti ini, jika dilakukan secara terus menerus diperkirakan dapat mengakibatkan penurunan populasi secara signifikan karena terjadi tangkap lebih (*overfishing*), terutama pada jenis-jenis tertentu yang senyawa bioaktifnya sudah diketahui aktifitas farmakologiknya dan sulit dibuat sintesisnya. Oleh karena itu, untuk mendapatkan pemanfaatan yang berkesinambungan, kelestarian sumber daya ini perlu dijaga dan dipertahankan (Suparno, 2005).

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, sedangkan bakterisida komersial umumnya membutuhkan kadar 100 ppm untuk menghambat pertumbuhan bakteri .

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk diversifikasi pemanfaatan biota laut di perairan Indonesia yang belum dimanfaatkan secara maksimal, melalui pengetahuan mengenai kandungan kimia dan sifat bioaktifnya. Di masa depan, senyawa bioaktif sponge diharapkan dapat menjadi bakterisida baku di bidang perikanan maupun bahan makanan. Oleh karena itu diperlukan kajian yang lebih mendalam mengenai potensi bioaktif antibakteri yang ada pada sponge.

1.2 Perumusan Masalah

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. *Geodia sp.* merupakan salah satu spesies sponge yang diduga memiliki bioaktif antibakteri yang nantinya dapat diperluas pemanfaatannya sebagai zat bakterisidal pada bahan pangan khususnya produk perikanan.

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. Senyawa terpenoid dan turunannya terdapat pada berbagai jenis invertebrata termasuk spons yang kemudian diubah melalui biosintesis serta fotosintesis menghasilkan senyawa bioaktif yang spesifik pada hewan tersebut.

Dari uraian tersebut didapat permasalahan sebagai berikut:

- Pelarut manakah yang paling efektif digunakan untuk mengekstrak komponen antibakteri pada sponge.
- Senyawa- senyawa bioaktif apakah yang dominan terkandung dalam ekstrak sponge *Geodia sp.* kering.

1.3 Tujuan Penelitian

Secara umum, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji manfaat sponge *Geodia sp.* sebagai bioaktif untuk mengendalikan bakteri *Echericia coli* dan *Vibrio harveyi*.

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

- Mengetahui jenis pelarut yang efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada sponge *Geodia sp.* kering.

- Mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam sponge *Geodia sp.* kering dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GCMS).

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

- Diduga ada pengaruh dari penggunaan berbagai jenis pelarut yang berbeda saat proses ekstraksi terhadap daya antibakteri dari ekstrak sponge *Geodia sp.*
- Diduga ekstrak sponge *Geodia sp* kering memiliki senyawa bioaktif yang berbeda.

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari hasil penelitian ini adalah untuk memberikan informasi awal kepada masyarakat mengenai pemanfaatan sponge yaitu :

- Terdapat senyawa bioaktif dalam sponge.
- Memanfaatkan sponge sebagai alternatif bakterisidal alami yang sangat potensial

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

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

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran Umum Sponge (Karang Lunak)

Spons merupakan organisme multiseluler tak bertulang belakang yang potensial dijadikan bahan eksplorasi pencarian senyawa baru antikanker karena spons merupakan penghasil senyawa bioaktif antiviral maupun senyawa sitotoksik (Setyowati *et al*, 2007). Spons (Porifera) merupakan hewan multiseluler yang paling primitif. Hewan ini hidup menetap di dasar perairan. Bergquist (1978) mengatakan bahwa sebagian besar spons mengambil makanan dengan cara menyaring bahan organik yang terdapat di air. Hampir 99% spons hidup di perairan laut (Multiply, 2009).

Spons merupakan binatang laut yang hidup di kedalaman sampai dengan 50 meter di bawah permukaan laut. Di dunia diduga terdapat sekitar 10.000 spesies spons dan diperkirakan sekitar 200 spesies hidup di ekosistem terumbu karang Asia Tenggara (Dahuri, 2003). Jumlah spesies spons di Indonesia diperkirakan sebanyak 830 spesies (Sujatmiko, 2000).

Spons diklasifikasikan berdasarkan bentuk spikula (Hooper, 2002) atau oleh bentuk sistem aquiferous, jaringan-chamae dan ruang di mana air mengalir (Wu, 1995). Dengan berkembangnya biologi molekular, beberapa ilmuwan mengusulkan untuk mengklasifikasikan spons dengan ekspresi gen (Muller, 2001) dalam (Qu Yi *et al*, 2005).

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 lingkungan dari lingkungan yang lebih stabil apabila dibandingkan dengan jenis yang sama yang hidup pada perairan yang dangkal (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. Dari arah spongocoel ini terdapat lubang keluar yang terletak di bagian ujung atas tubuhnya yang disebut osculum.

Sponge memiliki sistem kanal yang berfungsi sebagai sistem sirkulasi seperti halnya pada hewan tingkat tinggi. Sistem ini dilengkapi jalan bebas untuk pemasukan zat makanan ke dalam tubuh dan pengeluaran zat buangan ke luar tubuh. Ada tiga macam tipe kanal yaitu : tipe askon, tipe sikon, dan tipe ragon. (Romimohtarto *et al.*, 1999 dalam Sarles, 2010).

2.1.2 Sistem Pencernaan

Spons berbeda dari binatang lain karena mereka hanya menyajikan pencernaan intraselular. Mereka tidak memiliki sistem pencernaan juga tidak melepaskan enzim pencernaan dalam spongocoel yang menyebabkan ekstraselular memecah gizi. Selain dari spons, yang tidak memiliki rongga pencernaan di mana pencernaan ekstraseluler terjadi, semua binatang lain memiliki sistem pencernaan dengan internal rongga yang terjadi pencernaan ekstraseluler (Biology questions, 2009).

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 aseksual dan seksual yang dikenal di spons. Sebagian besar spons kalikan dengan seksual repro-produksi. Spons memproduksi sperma dan telur di waktu yang berbeda. Semen tertangkap oleh spons kemudian berbalik ke dalam telur dengan bantuan archeocytes. Larva yang direproduksi selama tahap seksual dan dilepaskan ke laut. Pengembangan dan tetas encapsu-gemmules lated sangat disarankan dalam aseksual proses (Pronzato dan Manconi, 1994; Richelle-Maurer dan Degoudenne, 1994), yang bertugas di musim dingin di air tawar dan lebih spongillids baru-baru ini dalam spesies laut. Bila cuaca bagus, kuncup atau gemmule akan berubah menjadi spons.

Reproduksi seksual sangat bergantung pada beberapa faktor, yaitu lingkungan seperti suhu air, pasang surut, dan fase bulan. Selama musim kawin sperma dilepaskan ke air dan akhirnya memasuki porocytes dari spons perempuan. Sperma ini kemudian diambil oleh choanocytes, dan kemudian disampaikan kepada amoebocytes yang membawa mereka ke sel telur terletak di mesohyl tersebut. Spons dapat berupa dioecious atau monoecious; tergantung pada spesies (Bellamirne, 2010).

2.1.5 Budidaya Sponge

Upaya pertama dilakukan di Florida tahun 1879. Pada awal 1960-an, percobaan di Yunani menunjukkan bahwa *Spongia officinalis* ulang baik jika potongan dipotong ditempelkan ke substrat buatan. Spons budidaya akan tumbuh untuk ukuran komersial dalam waktu 5-7 tahun. Keuntungan dari budidaya spons adalah mereka dari spesies akuatik yang paling berbudaya: panen hanya perlu dilakukan ketika pasar sedang bagus, dan untuk ukuran batas tertentu, kualitas dan warna spons dapat dikontrol sesuai dengan kebutuhan pasar. Namun, konsentrasi tinggi spons di wilayah yang relatif sempit menciptakan masalah penyakit. Tidak ada angka tersedia di produksi di seluruh dunia berbudaya spons hadir, tetapi proyek-proyek baik di jalan baik di Karibia dan Mediterania (Fao, 2010).

Underwater akuakultur adalah metode yang paling umum digunakan dalam budidaya spons (Florida Ikan dan Wildlife Conservation Commission, 2002). Mengambil contoh *officinalis* *Spongia* akuakultur di Mikronesia, sistem ini terdiri dari perikanan budidaya unit, masing-masing yang mencakup sekitar 20-30 m panjang tali nilon dengan > 50 kg kompresi resisten. Tali nilon ini melampirkan 2 polypropylene 10-15m tali panjang dan diameter 6.35 mm. Periode perairan adalah sekitar 2 tahun, dan tingkat kelangsungan hidup sekitar 95%. Metode lain budidaya digunakan di Amerika Serikat, spons dipotong-potong serta dilengkapi dengan aluminium kawat ke substrat buatan (beton disk) dan dimasukkan ke laut. Spons akan mencapai ukuran komersial dalam 1 atau 2 tahun di bawah kondisi alam (Qu Yi *et al*, 2005).

Dalam akuakultur, tingkat kelangsungan hidup tinggi dan jumlah panen spons besar, sedangkan biaya rendah. Namun, tingkat pertumbuhan yang relatif rendah. Sementara, karena polusi yang serius di laut, banyak spons berpenyakit dan lebih banyak terjadi, yang memiliki dampak bencana alam pada populasi dan

aquacultures spons. Hal ini diperlukan untuk mengembangkan budidaya spons dalam keadaan terkendali. Menurut laporan, total produksi adalah 360 ton pada tahun 1987, tetapi bahwa pada tahun 1989 hanya 297 ton (Lin, 1991)

Menurut Porifarma (2007), budaya metode yang akan dikembangkan dalam spons termasuk teknik pada tiga tingkat kompleksitas teknologi yang berbeda:

1. Budidaya Berbasis Laut

Beberapa metode yang relatif mudah untuk pertanian spons di laut. ini metode tersebut akan dioptimalkan dalam proyek ini untuk memungkinkan produksi massal dari enam spesies spons relevan ekonomis.

2. Budidaya Berbasis Tanah di tangki dengan air laut alami

Pendekatan ini telah digunakan dengan sukses untuk mempertahankan spons mantan-situ untuk jangka waktu yang lama.

3. Berdasarkan Sistem Budidaya Lahan Tertutup

Ini adalah teknik yang paling menantang untuk mengembangkan dalam hal kompleksitas teknologi, tetapi juga teknik yang paling diinginkan sehubungan dengan pengendalian proses produksi. Oleh karena itu, bagian utama dari upaya penelitian dalam spons akan didedikasikan untuk pembentukan sistem ini, yang meliputi baik budidaya spons fungsional di kandang dan budidaya primmorphs spons (agregat selular yang diperoleh dari sel dipisahkan) di bioreaktor.

Teknik budaya untuk dikembangkan adalah integrasi dari teknologi inovatif dari empat UKM Eropa, termasuk strategi baru untuk pakan spons dan setengah terbuka sistem tertutup, sebuah teknologi unik untuk mengontrol kualitas air di sistem laut buatan, teknologi sensor novel spektrometri (dan sesuai perangkat lunak) untuk memonitor dan mengontrol sistem, in vitro sistem budidaya spons (berdasarkan primmorphs) untuk pengujian desain menengah, dan pertanian

spons metodologi tertentu. Produk pembentukan dalam spesies akan dipelajari dalam rangka untuk mengoptimalkan produktivitas dari sistem budaya. metode dalam kultur yang dikembangkan akan diterapkan pada jumlah tambahan spesies, dalam rangka untuk menguji sampai sejauh mana metode ini dapat dianggap sebagai generik.

2.2 Senyawa Aktif Antibakteri pada Sponge

Spons merupakan invertebrata dengan variasi struktur metabolit yang kompleks. Penelitian-penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa senyawa kimia yang terkandung dalam spons sangat potensial dan efektif sebagai antimikroba, antimalaria, spermatisida, insektisida, bahkan beberapa jenis spons menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker (Lady, 2008).

Spons dikenal sebagai organisme yang kaya dengan kandungan senyawa bioaktif. Menurut Munro *et al.* (1999), spons merupakan biota laut yang paling banyak diteliti kandungan senyawa bioaktifnya. Senyawa bioaktif dari spons sangat beragam dan secara kimia memiliki struktur yang unik dan menarik untuk dijadikan sebagai senyawa pemandu (*lead compound*) dalam sintesis obat-obat baru (Nursid *et al.*, 2008).

Spons laut memiliki potensi bioaktif yang sangat besar. Selama 50 tahun terakhir telah banyak kandungan bioaktif yang telah ditemukan. Kandungan bioaktif tersebut dikelompokkan beberapa kelompok besar yaitu *antiflammantory*, antitumor, *immunosuppressive*, antivirus, antimalaria, antibiotik, dan antifouling. Spons dapat memproduksi racun dan senyawa lain yang digunakan untuk mengusir predator, kompetisi dengan hewan sesil lain dan untuk berkomunikasi dan melindungi diri dari infeksi. Zhang *et al.*, 2003 menyatakan bahwa lebih dari 10 % spons memiliki aktifitas sitotoksik yang dapat yang berpotensi untuk bahan obat-obatan. Pada spons juga telah ditemukan berbagai senyawa yang

dapat digunakan sebagai campuran obat seperti senyawa antitumor, antivirus, antibakteri, antijamur, antifouling, antimalaria dan lain-lain (Multiply, 2009).

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).

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

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



Gambar 1. *Geodia* sp. di habitat aslinya

2.4 *Escherichia coli*

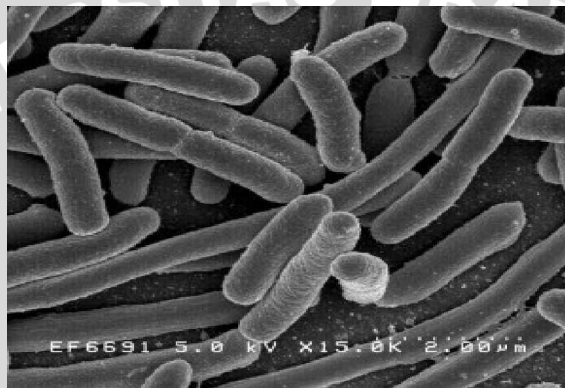
2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi

Escherichia coli adalah salah satu yang paling dikenal dan secara intensif mempelajari bakteri. Sering disingkat menjadi *E. coli*, bakteri ini ditemukan pada tahun 1885 oleh bakteriologi Jerman Dr Theodor Escherich. Awalnya, bakteri ini disebut bakteri coli, tetapi kemudian namanya diubah untuk menghormati Dr Escherich (Hoyle, 2010).

E. coli adalah Gram-negatif, fakultatif anaerobik dan non-sporulating. Sel biasanya berbentuk batang dan sekitar 2 mikrometer (μm) panjang dan 0,5 μm diameter, dengan volume sel 0,6-0,7 μm^3 . Hal ini dapat hidup pada berbagai macam substrat. A strain *E. coli* adalah sub-grup dalam spesies yang memiliki karakteristik unik yang membedakannya dari *E. coli* strain lainnya. Perbedaan ini sering terdeteksi hanya pada tingkat molekuler, namun mereka dapat mengakibatkan perubahan fisiologi atau siklus hidup bakteri. Misalnya, strain mungkin mendapatkan kapasitas patogen, kemampuan untuk menggunakan sumber karbon yang unik, kemampuan untuk mengambil ke atas tertentu ceruk ekologis atau kemampuan untuk melawan agen antimikroba (Wikipedia, 2010).

Menurut Brooks, et al. (2001), klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Procaryota
Divisio : Gracilicutes
Class : Scotobacteria
Ordo : Eubacteriales
Family : Entobacteriaceae
Genus : Escherichia
Species : *Escherichia coli*



Sumber : Wikipedia, 2009

Gambar 2. Bakteri Escherichia coli

2.4.2 Habitat dan Penyebaran

Escherichia coli menghuni saluran usus manusia dan berdarah lain hangat-mamalia . Ini merupakan sekitar 0,1% dari total bakteri dalam saluran usus dewasa. *E. coli* dapat menyebar ke makanan melalui penanganan makanan dengan tangan kotor, khususnya setelah menggunakan kamar mandi (Hoyle, 2010).

2.4.3 Metabolisme dan Pertumbuhan

Optimal pertumbuhan *E. coli* terjadi pada suhu 37 ° C (98,6 ° F) tapi beberapa strain laboratorium dapat berkembang biak pada suhu hingga 49° C

(120,2 ° F). Pertumbuhan dapat digerakkan oleh aerobik atau respirasi anaerob , menggunakan berbagai macam redoks pasang , termasuk oksidasi asam piruvat, asam format, hidrogen dan asam amino, dan pengurangan substrat seperti oksigen, nitrat, sulfoxide dimetil dan trimetilamina N-oksida . Biasa digunakan sebagai vektor untuk menyisipkan gen-gen tertentu yang diinginkan untuk dikembangkan. E. coli dipilih karena pertumbuhannya sangat cepat dan mudah dalam penanganannya (Wikipedia, 2010).

E coli adalah salah satu group koliform yang dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 44⁰C, bersifat indol positif tidak dapat menggunakan sitrat, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37⁰C, bersifat merah metil (methyl red) positif, voges-proskauer (VP) negative (Hawley, 2003). 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 37⁰C (Supardi, 1999).

E. coli mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O yang merupakan antigen somatik berada di bagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida, bersifat tahan terhadap panas, tahan alkohol dan biasanya dideteksi dengan cara aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul dan bersifat tidak tahan panas (Brooks, 2001).

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

- a. Fase adaptasi adalah fase dimana bakteri selama 1-2 jam setelah pemindahan belum mengadakan pembiakan.

- b. Fase pembiakan cepat, dimana pembiakan atau pertumbuhan bakteri berlangsung paling cepat.
- c. Fase pembiakan diperlambat, dimana kecepatan pembiakan bakteri mulai berkurang. Pada fase ini tampak sesekali adanya penyusutan jumlah 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 berbiak 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.

2.4.4 Patogenitas

Pada umumnya, bakteri yang ditemukan oleh Theodor Escherich ini hidup pada tinja, dan dapat menyebabkan masalah kesehatan pada manusia, seperti diare, muntaber dan masalah pencernaan lainnya (Wikipedia, 2009). E. Coli dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksi, seperti infeksi saluran kemih (ISK) dan diare. Beberapa strain E. coli menyebabkan diare yaitu Enteropathogenic E. Coli (EPEC), Enterotoxigenic E. Coli (ETEC) merupakan penyebab umum diare pada musafir. Enterohemorrhagic E. coli (EHEC) dihubungkan dengan hemoragic colitis, Enteroinvasive E. Coli (EIEC) menyebabkan penyakit mirip shigellosis sedangkan Enteroagregative E. Coli (EAEC) menyebabkan diare yang akut dan kronis (Hawley, 2003).



2.5 *Vibrio harveyi*

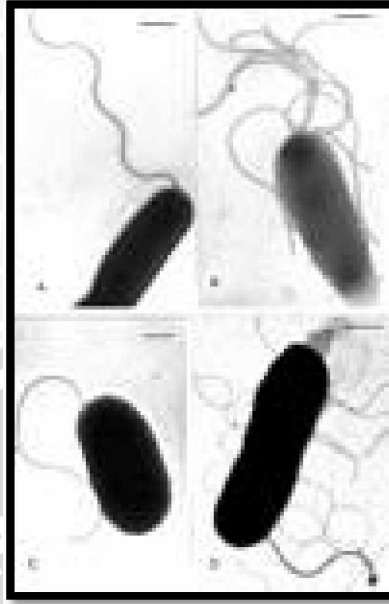
2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi

Bakteri vibrio memiliki ciri-ciri antara lain berbentuk batang pendek, tidak membentuk spora, bergerak dengan flagel pada salah satu kutubnya. Bakteri ini berukuran $0,5 \mu\text{m} \times 1,4 - 2,6 \mu\text{m}$, bersifat gram negative, tumbuh baik pada kadar NaCl 1 – 1,5 %, terdapat tunggal atau kadang-kadang bersatu dalam bentuk spiral, kehadirannya dengan satu flagellum polar (Kabata, 1985). Menurut Jawetz, Melnick dan Adelberg (1984), bakteri ini berbentuk koloni yang halus, bulat dan bergranula pada sinar cahaya.

Menurut Salle (1961), klasifikasi dari bakteri *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

- | | |
|----------|-------------------------|
| Phylum | : Protophyta |
| Kelas | : Schizomycetes |
| Ordo | : Pseudomonadales |
| Sub Ordo | : Pseudomonadineae |
| Famili | : Spiriliaceae |
| Genus | : <i>Vibrio</i> |
| Spesies | : <i>Vibrio harveyi</i> |





Sumber : lux.ibp.ru/info/history.htm

Gambar 3. Bakteri *Vibrio harveyi*

2.5.2 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 di habitat air tawar (Bauman et al, 1984).

Bakteri *vibrio* spp. termasuk jenis bakteri halofit yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi. Dapat tumbuh optimum pada salinitas 20-30 ppt dan tumbuh baik pada kondisi alkali yaitu pH optimum berkisar antara 7,5 – 8,5 (Prajitno, 2005).

2.5.3 Metabolisme dan Pertumbuhan

Pada umumnya bakteri *Vibrio* tumbuh secara optimal pada suhu berkisar dari 18 sampai 37^o C (Pelczar dan Chan, 1988). Menurut Lightner (1992) dalam Prajitno *et al* (1998), pada suhu 4^oC dan 45^oC bakteri tersebut tidak tumbuh dan

pada suhu 55°C akan mati dan kisaran salinitas yang baik untuk dapat berkembang yaitu antara 20-35 ppt. Serta pH optimumnya untuk dapat tumbuh berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman dan Lee, 1984).

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik yang meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi, selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteriostatik (Prajitno, Herawati dan Hariati, 1998). Menurut Dwidjoseputro (1998), *Vibrio* termasuk kemoorganotropik, yaitu mikroba yang dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energy. Medium yang cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri.

Vibrio spp. bersifat anaerobik fakultatif, dimana metabolisme dapat dilakukan dengan ataupun tanpa oksigen (English et al., 1993). Bakteri ini mempunyai enzim katalase dan mampu menghasilkan enzim oksidase yang bersifat fermentative (Shewan and Veron, 1974).

2.5.4 Patogenitas

Vibrio harveyi diakui sebagai pathogen yang berbahaya dalam pembenihan larva udang di seluruh wilayah asia tenggara. Pada budidaya udang windu intensif, turunan *Vibrio harveyi* yang ganas menyebabkan kematian yang efektif pada tingkatan *hatchery*. Fenomena penyakit yang disebabkan oleh strain ini pada umumnya dihubungkan sebagai penyakit "*luminous bacterial*" atau "*luminous vibriosis*" (Harris dan Owens, 1999).

Didalam hubungan antara inang (udang), bakteri pathogen dan lingkungan (kualitas air) harus dalam keadaan seimbang. Bila terjadi gangguan antara ketiga faktor tersebut yang menyebabkan ketidakseimbangan akan timbul suatu wabah penyakit. Dalam keadaan stress udang, pada keadaan kritis, sehingga mudah

terpengaruh oleh faktor lingkungan yang tidak seimbang tersebut. Lingkungan yang tidak seimbang ini merupakan kondisi yang baik bagi pertumbuhan bakteri pathogen dan akan mengeluarkan sejenis racun tertentu yang mempengaruhi kerja enzim dalam tubuh udang atau menyerap makanan dari tubuh udang sehingga mengganggu pertumbuhannya (Prayitno, 1995).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Seringkali campuran bahan padat dan cair (misalnya bahan alami) tidak dapat atau sukar sekali dipisahkan dengan metode pemisahan mekanis atau termis yang telah dibicarakan. Misalnya saja, karena komponennya saling bercampur secara sangat erat, peka terhadap panas, beda sifat-sifat fisiknya terlalu kecil, atau tersedia dalam konsentrasi yang terlalu rendah (Rahayu, 2009).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (medicafarma, 2009).

Proses ekstraksi senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueus phase* dan *organic phase*. Ekstraksi *aqueus phase* dilakukan

dengan pelarut air, sedangkan ekstraksi *organic phase* menggunakan pelarut organik. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne , 1978 dalam Kusmiyati, 2006).

2.7 Pelarut

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas, yang menghasilkan sebuah larutan. Pelarut paling umum digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Pelarut lain yang juga umum digunakan adalah bahan kimia organik (mengandung karbon) yang juga disebut pelarut organik. Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar (Wikipedia, 2009).

Menurut Rivai (1995), akhir – akhir ini ada kecenderungan semakin banyak pelarut bukan air digunakan dalam pemeriksaan kimia, pelarut tersebut biasanya berupa pelarut organik. Selain itu, pelarut tersebut bisa digunakan sebagai campuran dengan beberapa pelarut organik lain atau dengan air. Salah satu ciri penting dari pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat/ senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan / kutub dalam ruangan hampa dengan gaya bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut. Jadi umumnya pelarut–pelarut yang berkutub (polar) dapat melarutkan zat – zat yang berkutub, dan pelarut yang tak berkutub dapat melarutkan zat – zat yang tidak berkutub. Beberapa tetapan dielektrik bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Konstanta Dielektrik Beberapa Bahan Pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrik (D)	Tingkat Kelarutan Dalam Air
Kloroform	4,806	Sedikit
Etil asetat	6,02	Sedikit
n-butanol	17,80	Sedikit
2-propanol	18,30	Misibel
1-propanol	20,10	Sedikit
Aseton	20,70	Misibel
Etanol	24,30	Misibel
Metanol	33,60	Misibel
Air	80,40	Misibel

Keterangan : Misibel = dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi
 Sumber : Sudarmadji, *et al.*, (1997)

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 senyaa kompleks yang terikat secara kimia (Day and Underwood, 1999). Sifat umum pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat - Sifat Pelarut Umum

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

Sumber: Wikipedia, (2009).

2.7.1 Kloroform

Kloroform adalah nama umum untuk triklorometana (CHCl_3). Kloroform dikenal karena sering digunakan sebagai bahan pembius, meskipun kebanyakan digunakan sebagai pelarut nonpolar di laboratorium atau industri. Wujudnya pada suhu ruang berupa cairan, namun mudah menguap (Wikipedia, 2009).

Menurut Fatmawaty (2009), 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. Penggunaan CHCl_3 untuk pelarut untuk lemak, *dry cleaning* dan obat bius. Kloroform yang dapat dari alkohol dengan kapur klor (bleaching powder) melalui tiga tingkatan reaksi yaitu :

1. Oksidasi oleh halogen

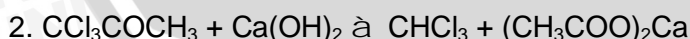
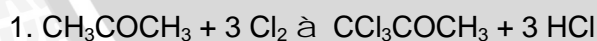


2. Klorinasi dari hasil oksidasi



3. $\text{CCl}_3\text{CHO} + \text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{CHCl}_3 + (\text{HCOO})_2\text{Ca}$

Sedangkan pada reaksi dengan aseton lebih kuat, sehingga dalam proses sintesa digunakan susunan alat yang agak berbeda. Reaksinya adalah sebagai berikut



2.7.2 Heksana

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$). Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana

berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Seluruh isomer heksana amat tidak reaktif, dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang inert. Heksana juga umum terdapat pada bensin dan lem sepatu, kulit dan tekstil.

Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Wikipedia, 2010).

Menurut Merck (2010), bahaya yang ditimbulkan oleh pelarut heksana antara lain cairan dan uap yang sangat mudah terbakar, dapat berakibat fatal bila tertelan atau memasuki saluran pernapasan. Diduga merusak kesuburan atau anak yang belum lahir, dapat menyebabkan kerusakan organ-organ melalui eksposur yang lama atau berulang-ulang, menyebabkan gangguan pada kulit. dapat menyebabkan rasa mengantuk dan pusing, beracun bagi mahluk dalam air dengan dampak jangka panjang.

2.7.3 Etanol

Etanol adalah cairan tak berwarna yang mudah menguap dengan aroma yang khas. Ia terbakar tanpa asap dengan lidah api berwarna biru yang kadang-kadang tidak dapat terlihat pada cahaya biasa. Sifat-sifat fisika etanol utamanya dipengaruhi oleh keberadaan gugus hidroksil dan pendeknya rantai karbon etanol. Gugus hidroksil dapat berpartisipasi ke dalam ikatan hidrogen, sehingga membuatnya cair dan lebih sulit menguap dari pada senyawa organik lainnya dengan massa molekul yang sama (Wikipedia, 2009).

Etanol dapat dioksidasi menjadi asetaldehida, yang kemudian dapat dioksidasi lebih lanjut menjadi asam asetat. Dalam tubuh manusia, reaksi oksidasi ini dikatalisis oleh enzim tubuh. Pada laboratorium, larutan akuatik oksidator seperti asam kromat ataupun kalium permanganat digunakan untuk mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Proses ini akan sangat sulit

menghasilkan asetaldehida oleh karena terjadinya overoksidasi. Etanol dapat dioksidasi menjadi asetaldehida tanpa oksidasi lebih lanjut menjadi asam asetat menggunakan piridinium kloro kromat (*Pyridinium chloro chromate, PCC*) (Streitweiser *et al*, 1976).

Etanol termasuk dalam alkohol primer, yang berarti bahwa karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua hidrogen atom yang terikat dengannya juga. Reaksi kimia yang dijalankan oleh etanol kebanyakan berkuat pada gugus hidroksilnya. Etanol juga dapat membentuk senyawa ester dengan asam anorganik. Dietil sulfat dan trietil fosfat dihasilkan dengan mereaksikan etanol dengan asam sulfat dan asam fosfat. Senyawa yang dihasilkan oleh reaksi ini sangat berguna sebagai agen etilasi dalam sintesis organik. 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. (Wikipedia, 2009). Buckingham (1982) menambahkan, etanol merupakan pelarut organik yang dapat diproduksi melalui fermentasi gula, karbohidrat dan pati.

Etanol biasanya digunakan untuk mengekstrak senyawa-senyawa aktif yang bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahan pelarut etanol lebih baik dari pada air, methanol maupun pelarut lain dalam mengekstraksi senyawa antioksidan maupun antibakteri (Hirasawa *et al.*, 1999).

2.7.4 Metanol

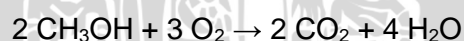
Metanol dahulu dibuat dari kayu melalui penyulingan dan kadang dinamakan alkohol kayu. Kata metil berasal dari bahasa latin (Methy : anggur,

yle: kayu). Tetapi methanol sekarang dibuat dari karbon monoksida dan oksigen. Metanol memiliki titik didih 65°C dan larut sempurna dalam air pada suhu 20°C (Hart, 1983).

Metanol, juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH₃OH. Ia merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan atmosfer 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:



Karena sifatnya yang beracun, metanol sering digunakan sebagai bahan aditif bagi pembuatan alkohol untuk penggunaan industri; Penambahan racun ini akan menghindarkan industri dari pajak yang dapat dikenakan karena etanol merupakan bahan utama untuk minuman keras (minuman beralkohol) (Wikipedia, 2009).

2.7.5 Air (Aquadest)

Air adalah substansi kimia dengan rumus kimia H₂O: 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. 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).

2.8 Uji Aktivitas Antimikroba

2.8.1 Uji Cakram

Menurut Kusmiyati *et al* (2006), pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (Pharmacopeial, 1993). Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri.

Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

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).

2.8.2 Mekanisme Kerja Antibakteri

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa merusak dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteristatik, bakterisidal, dan bakterilitik (Pelczar & Chan 1986).

Menurut Huda (2008), antibiotik menghambat pertumbuhan mikroba dengan cara bakteristatik atau bakterisid. Hambatan ini terjadi sebagai akibat gangguan reaksi yang esensiil untuk pertumbuhan. Reaksi ini mungkin merupakan satu-satunya jalan untuk mensintesis makromolekul seperti protein atau asam nukleat, sintesis struktur sel seperti dinding sel atau membran sel dan sebagainya. Antibiotik tertentu dapat menghambat beberapa reaksi. Reaksi

tersebut ada yang esensiil untuk pertumbuhan dan ada yang kurang esensiil. Penghambatan pada beberapa reaksi dapat terjadi secara langsung yaitu antibiotik langsung memblokir beberapa reaksi tersebut, namun masing-masing reaksi memerlukan konsentrasi antibiotik yang berbeda. Ketergantungan pada konsentrasi ini menggambarkan perbedaan kepekaan reaksi tersebut terhadap antibiotik. Selain itu, pengaruh antibiotik juga dapat terjadi secara tidak langsung yaitu berupa pengaruh sekunder akibat gangguan pada reaksi lain sebagai pengaruh primer. Dalam banyak hal ada kesulitan untuk membedakan gangguan tersebut primer atau sekunder. Contoh antibiotik yang mengganggu beberapa reaksi yaitu streptomisin, antara lain mempengaruhi sintesis protein, sintesis RNA & DNA, integritas membran sel dan respirasi, tetapi tidak diketahui apakah semuanya merupakan pengaruh primer atau sekunder. Dalam beberapa hal mekanisme kegiatan antibiotik sukar diterangkan karena beberapa alasan, seperti :

1. Kesulitan menetapkan gangguan tersebut sebagai pengaruh sekunder atau primer.
2. Kebanyakan antibiotik merupakan substansi kimia yang rumit dan sering tidak mungkin disintesis secara kimia, sehingga sulit membuat antibiotik bertanda radioaktif.
3. Reaksi esensiil yang diblokir, mungkin belum diketahui dengan jelas.
4. Metabolisme organisme berbeda satu sama lain walaupun pada prinsipnya sama, sehingga mekanisme kegiatan pada satu organisme, mungkin bukan cara antibiotik tersebut menghambat pertumbuhan organisme lainnya.

Namun demikian para ahli telah berusaha menerangkan mekanisme kerja antibiotik pada sel mikroba. Berdasarkan pengamatan mereka cara antibiotik menghambat mikroba melalui mekanisme yang berbeda.

1. Antibiotik menghambat sintesis dinding sel mikroba.
2. Antibiotik mengganggu membran sel mikroba.
3. Antibiotik menghambat sintesis protein dan asam nukleat mikroba. Antibiotik mengganggu metabolisme sel mikroba.

Pradhika (2009) menambahkan, antibiotik adalah bahan yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau sintetis yang dalam jumlah kecil mampu menekan menghambat atau membunuh mikroorganisme lainnya. Antibiotik memiliki spektrum aktivitas antibiosis yang beragam. Antibiotik dikelompokkan berdasarkan gugus aktifnya, misal antibiotik *macrolide*, antimikroba peptida. Adapun penamaannya biasanya berdasarkan gugus kimiawinya ataupun mikroorganisma produsernya, misalnya: Mekanisme kerja antibiotik antara lain :

1. Menghambat dsintesis dinding sel
2. Menghambat sintesis RNA (proses transkripsi)
3. Menghambat sintesis protein (proses translasi).
4. Menghambat replikasi DNA.

2.9 Uji GCMS

Kromatografi gas - spektrometri massa (GC-MS) adalah sebuah metode yang menggabungkan fitur cair kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi zat yang berbeda dalam pengujian sampel. GC-MS adalah terdiri dari dua bangunan utama blok: yang gas kromatograf dan spektrometer massa. Kromatograf gas menggunakan kolom kapiler yang bergantung pada kolom dimensi (panjang, diameter, ketebalan film) serta sifat-sifat fase (misalnya 5% fenil polisiloksan). Perbedaan dalam sifat-sifat kimia antara berbagai molekul dalam campuran akan memisahkan molekul-molekul sebagai sampel perjalanan panjang kolom. Molekul mengambil jumlah yang berbeda waktu (yang disebut waktu retensi) untuk keluar dari (elute dari) kromatograf gas, dan ini

memungkinkan spektrometer massa hilir untuk menangkap, ionisasi, mempercepat, menangkis, dan mendeteksi molekul terionisasi secara terpisah. Spektrometer massa melakukan hal ini dengan melanggar setiap molekul ke terionisasi mendeteksi fragmen dan fragmen-fragmen ini menggunakan massa untuk mengisi rasio. Dua komponen, yang digunakan bersama-sama, memungkinkan tingkat yang jauh lebih baik daripada substansi identifikasi satuan yang dipakai baik secara terpisah. Tidak mungkin untuk membuat identifikasi akurat molekul tertentu atau kromatografi gas spektrometri massa sendirian. Proses spektrometri massa biasanya membutuhkan sampel yang sangat murni sedangkan kromatografi gas menggunakan detektor tradisional (misalnya ionisasi Flame Detector) mendeteksi beberapa molekul yang terjadi untuk mengambil jumlah waktu yang sama untuk melakukan perjalanan melalui kolom (yaitu memiliki waktu retensi yang sama) yang hasil dalam dua atau lebih molekul untuk bersama-elute. Kadang-kadang dua molekul yang berbeda dapat juga memiliki pola serupa terionisasi fragmen dalam spektrometer massa (massa spektrum). Menggabungkan dua proses membuatnya sangat tidak mungkin bahwa dua molekul yang berbeda akan berperilaku dengan cara yang sama di kedua kromatograf gas dan spektrometer massa (Wikipedia, 2009).

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.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan Utama Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri dari sponge adalah sponge jenis *Geodia sp.* yang diperoleh dari Perairan Pulau Gili Kabupaten Probolinggo, Jawa Timur. Biakan murni bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio harveyi* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

3.1.2 Bahan Penunjang Penelitian

Bahan penunjang dalam penelitian ini meliputi bahan tambahan dalam pengujian aktivitas antibakteri dari sponge dan bahan kimia yang digunakan untuk analisis yang terdiri dari bahan-bahan untuk ekstraksi, Uji Cakram dan Uji GC-MS.

Bahan untuk ekstraksi sponge antara lain: heksan, kloroform, metanol, etanol, aquades, gas N₂, kertas saring, *tissue* dan kertas label. Bahan untuk Uji Cakram antara lain: alkohol 70%, kertas cakram (*paper disc*), aluminium foil, kapas, cotton buds, Media TSA (*Tryptone Soy Agar*) dan media (*Thiosulfat Citrate Bilesalt Sucrose Agar*) TCBSA.

3.1.3 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk mengeringkan sponge sebelum di ekstraksi antara lain : Oven merk "Binder", timbangan digital, mangkok alas penimbangan, pinset, pisau dan loyang.

Peralatan yang digunakan pada proses ekstraksi dari sponge antara lain: *beaker glass* 250 ml, gelas ukur 100 ml, erlenmeyer 250 ml, pisau, telenan, timbangan analitik, *rotary evaporator*, corong *glass*, nampan.

Peralatan yang digunakan dalam analisis kimia yaitu untuk uji cakram dan uji GC-MS antara lain: tabung reaksi, timbangan analitik, cawan petri, inkubator, micro pipette, pH meter, autoclave, erlenmeyer, jarum ose, bunsen, colony counter, triangle, pinset dan instrumen GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry* GCMS-QP2010S SHIMADZU).

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen untuk tahap pertama. Menurut Nazir (1989), tujuan penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada kelompok percobaan. Eksperimen dalam penelitian ini dibagi dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

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 pembanding.

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

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.* kering dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GCMS).

3.2.2 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).

3.2.3 Rancangan Penelitian

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

Perlakuan:

A : ekstraksi dengan pelarut aquades

B : ekstraksi dengan pelarut etanol

C : ekstraksi dengan pelarut metanol

D : ekstraksi dengan pelarut kloroform

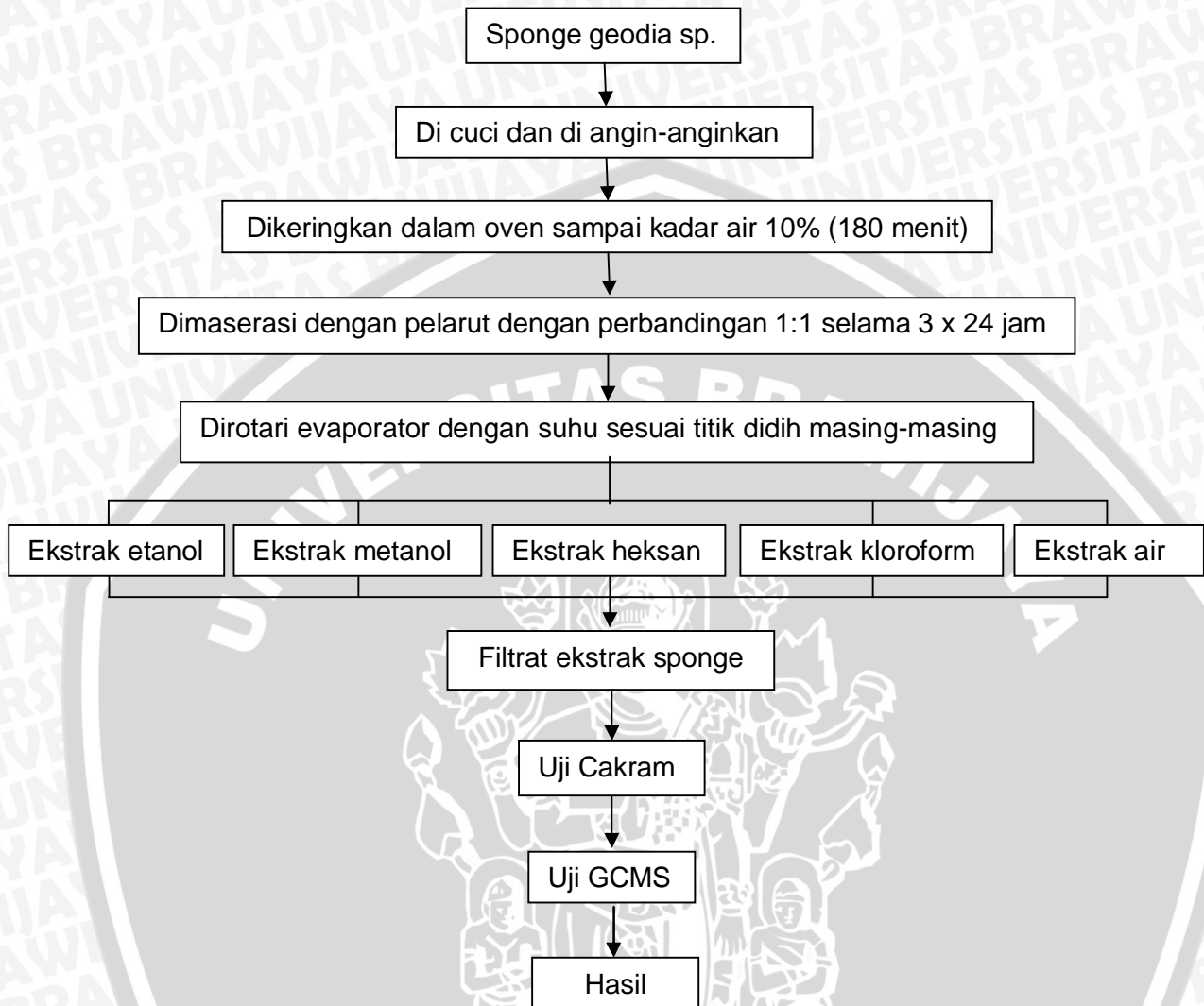
E : ekstraksi dengan pelarut hexan

Tabel 3. Rancangan Penelitian

Jenis Pelarut	Ulangan				
	1	2	3	4	5
A	A1	A2	A3	A4	A5
B	B1	B2	B3	B4	B5
C	C1	C2	C3	C4	C5
D	D1	D2	D3	D4	D5
E	E1	E2	E3	E4	E5



3.3 Kerangka Operasional



Gambar 4. Kerangka konsep operasional penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan

3.4.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Adapun langkah-langkah dalam proses mensterilkan alat dan bahan menurut Dwijoseputro (1998) adalah sebagai berikut :

- Alat yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas perkamen kemudian diikat dengan benang dan bahan dalam tabung reaksi ditutup dengan kapas.

- b. Aquades dituang secukupnya kedalam autoclave, kemudian alat yang telah dibungkus dengan kertas perkamen dimasukkan kedalam autoclave.
- c. Autoclave ditutup serta baut-bautnya dikencangkan sampai rapat.
- d. Kompor dapat dinyalakan sampai suhu autoclave naik.
- e. Bila jarum telah menunjukkan suhu 121°C pada tekanan 1 atm, hal ini merupakan tanda bahwa tekanan dalam autoclave telah jenuh. Api kompor dikecilkan agar kondisi suhu serta tekanan tetap dapat dipertahankan sampai 15 menit.
- f. Api kompor pada autoclave dimatikan kemudian kran uap air dibuka sampai manometer menunjukkan angka 0 atau ditunggu sampai dingin sendiri.
- g. Autoclave dibuka dengan cara memutar baut yang ada ditutup autoclave.
- h. Alat dan bahan yang steril diambil.
- i. Alat yang sudah steril tadi disimpan dalam incubator, sedangkan bahan yang sudah steril dapat disimpan dalam lemari pendingin. Bila alat yang sudah steril langsung digunakan maka kertas perkamen dapat dibuka, tapi bila digunakan beberapa hari lagi kertas pembungkus jangan dibuka dahulu.

3.4.1.2 Pembuatan Media

A. Pembuatan Medium TCBSA (*Thiosulfat Citrate Bilesalt Sucrose Agar*)

Tabel 4. 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 diwaterbath sesekali digoyang erlemeyer untuk memebantu 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 24jam untuk uji sterilitas medium
9. Jika melewati uji sterilitas medium sudah siap untuk digunakan.

B. Pembuatan Medium Tryptone Soya Agar (TSA)

Tabel 5. Komposisi Medium 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 pemeasan diwaterbath sesekali digoyang erlemeyer untuk memebantu 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 disterilissasi medium didinginkan sampai suhu ± 45 (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.

3.4.1.3 Pembiakan Bakteri *E. coli*

Biakan bakteri *Eschericia coli* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan bakteri dibiakkan terlebih dahulu dengan cara sebagai berikut :

1. Siapkan cawan petri yang berisi media TSA yang telah steril.
2. Usahakan jarum ose diatas bunsen, setelah dingin jarum ose disentuhkan pada biakan bakteri dan oleskan pada permukaan media TSA.
3. Petridisk ditutup dan sekelilingnya dipanaskan diatas pembakar bunsen, jarum ose juga dipanaskan kembali.
4. Media yang telah berisi bakteri diinkubasi pada suhu 37°C

3.4.1.4 Pembiakan Bakteri *Vibrio harveyi*

Biakan bakteri *vibrio harveyi* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan bakteri dibiakkan terlebih dahulu dengan cara sebagai berikut :

5. Siapkan cawan petri yang berisi media TCBSA yang telah steril.
6. Usahakan jarum ose diatas bunsen, setelah dingin jarum ose disentuhkan pada biakan bakteri dan oleskan pada permukaan media TCBSA.
7. Petridisk ditutup dan sekelilingnya dipanaskan diatas pembakar bunsen, jarum ose juga dipanaskan kembali.
8. Media yang telah berisi bakteri diinkubasi pada suhu 28°C

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Sponge

Sponge yang digunakan adalah jenis *Geodia sp.* Yang diperoleh dari Perairan Pulau Gili Kabupaten Probolinggo Propinsi Jawa Timur. Sponge dicuci bersih dan dihilangkan karang – karang keras yang masih menempel, dengan menggunakan air bersih kemudian diangin-anginkan. Sponge kemudian di potong kecil-kecil dan dikeringkan dalam pengering vakum (oven) pada suhu 60°C sampai kadar air 10% atau sekitar 180 menit. Selanjutnya dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol, metanol, heksana, kloroform, dan aquades 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 atau dipisahkan antara ekstrak dan pelarut dengan cara dirotari evaporator pada suhu titik didih masing-masing pelarut yang digunakan. Ekstrak kemudian ditampung dalam erlenmeyer sehingga diperoleh ekstrak etanol, metanol, heksana, kloroform dan air yang bebas dari pelarut dan kotoran.

3.4.3 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 mikroorganisme 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.

3.5 Analisis GCMS

Analisis GCMS dilakukan terhadap hasil ekstrak yang positif menunjukkan daya antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *Vibrio harveyi*. Analisis GCMS dilakukan berdasarkan metode Putra (2007). Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju 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.

3.6 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).

3.7 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 % untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses yang dilakukan untuk mendapatkan ekstrak dari sponge kering. Ekstraksi dilakukan menggunakan lima larutan yang berbeda dari larutan non polar hingga polar yaitu klorofom, heksana, air, methanol dan etanol. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui perbedaan efektivitas beberapa larutan tersebut untuk mengekstrak zat bioaktif sponge. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam potongan-potongan halus sponge *Geodia sp.* kering dengan perbandingan 1 : 1 yaitu 100 gr sponge dan 100 ml pelarut ke dalam masing-masing pelarut selama 3x24 jam, setelah itu dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring.

Ekstrak sponge yang dihasilkan setelah penyaringan menghasilkan warna yang berbeda-beda. Untuk pelarut non polar heksana menghasilkan warna kuning jernih dan klorofom menghasilkan warna coklat jernih. Pelarut polar yaitu methanol dan etanol menghasilkan warna yang hampir sama yaitu coklat jernih. Sedangkan pelarut berupa air (aquades) berwarna abu-abu keruh. Setelah penyaringan dilakukan pemekatan untuk tahap ekstraksi yang terakhir, pelarut etanol dan methanol dipekatkan menggunakan rotary evaporator vakum. Pelarut non polar heksana dan klorofom dipekatkan dengan cara ditiup dengan gas N₂. Ekstak air dipekatkan dengan cara stirer, karena air jika dirotary evaporator tidak dapat menguap.

4.2 Pemiakan Kultur Murni Bakteri

Bakteri *E.coli* dan *Vibrio harveyi* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Eschericia coli*

yaitu TSA (*Tryptone Soy Agar*), sedangkan media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Vibrio harveyi* yaitu media padat TCBSA (*Thiosulfat Citrate Bilesalt Sucrose Agar*).

4.3 Aktivitas Antibakteri pada Uji Cakram

Hasil penelitian daya antibakteri ekstrak sponge *Geodia sp.* kering dengan metode cakram, menunjukkan ekstrak sponge *Geodia sp.* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli* dan *Vibrio harveyi*. Dalam penelitian ini, aktivitas antibakteri diamati sebagai diameter zona penghambatan (mm) yang disebabkan oleh ekstrak sponge *Geodia sp.* dengan pelarut air, etanol, methanol, heksan dan kloroform terhadap bakteri uji, yaitu *Escherecia coli* dan *Vibrio harveyi* yang ditumbuhkan pada media TSA dan TCBSA. Diameter daerah hambatan bakteri *Escherecia coli* dan *Vibrio harveyi* disajikan pada Tabel 6 dan Gambar 5 untuk bakteri *E. coli* serta Tabel 7 dan Gambar 6 untuk Bakteri *Vibrio harveyi*.

Tabel 6. Hasil Uji Cakram Ekstrak Sponge *Geodia sp.* Terhadap Bakteri *Escherecia coli*

Pelarut	ZONA HAMBAT					Total	Rerata
	Kontrol	I	II	III	IV		
Air		6,03	6,02	6,02	6,02	24,09	6,02
Chlorofom		7,35	6,83	7,24	7,28	28,70	7,18
Etanol		6,04	6,06	6,04	6,04	24,18	6,05
Hexan		6,19	6,23	6,11	6,19	24,72	6,18
Metanol		6,02	6,01	6,05	6,02	24,10	6,03
Total		31,63	31,15	31,46	31,55	125,79	

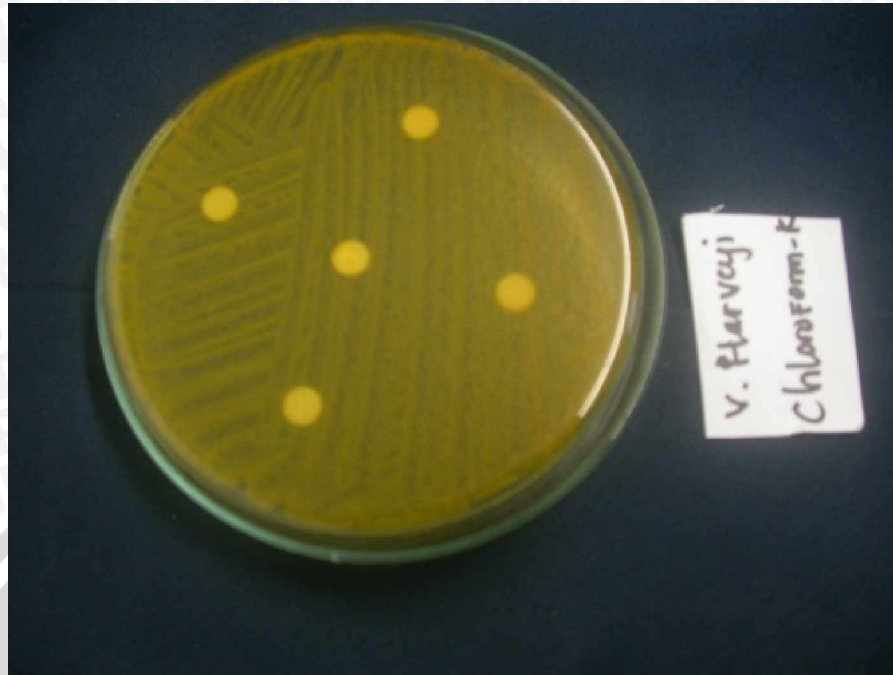
Tabel 7. Hasil Uji Cakram Ekstrak Sponge *Geodia sp.* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

Pelarut	Zona hambat					Total	Rerata
	Kontrol	I	II	III	IV		
Air		6,03	6,03	6,01	6,02	24,09	6,02
Chlorfom		6,22	6,10	6,32	6,30	24,94	6,24
Etanol		6,04	6,04	6,03	6,02	24,13	6,03
Hexan		6,19	6,25	6,11	6,21	24,76	6,19
Metanol		6,01	6,01	6,02	6,01	24,05	6,01
Total		30,49	30,43	30,49	30,56	121,97	

Tabel 6 dan Tabel 7. diatas menunjukkan bahwa ekstrak sponge dengan pelarut klorofom mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli* dan *Vibrio harveyi* lebih luas dari ekstrak pelarut lainnya. Hal ini dapat dilihat dari angka tertinggi pada rerata zona hambat diatas yang mencapai 7,18 untuk bakteri *E.coli* dan 6,24 untuk bakteri *Vibrio harveyi* dan dapat dilihat pada Gambar 5 a dan b.



(a)



(b)

Gambar 5. Daya Hambat Ekstrak Kloroform terhadap Bakteri *E.coli* (a) dan Bakteri *Vibrio harveyi* (b)

Gambar 5. merupakan hasil dari uji cakram ekstrak pelarut kloroform terhadap bakteri *E. coli* dan bakteri *Vibrio harveyi* yang mempunyai daerah hambat terluas. Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah hambatan di sekitar kertas cakram, dimana daerah hambatan ditunjukkan dengan adanya daerah jernih. Ekstrak pelarut kloroform lebih efektif digunakan sebagai antibakteri bakteri *E.coli* dari pada bakteri *Vibrio harveyi*, hal ini dapat dilihat pada gambar di atas. Walaupun dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, tetapi daerah jernih yang ada di sekitar kertas cakram tidak terlalu luas.

Menurut Winarsih *et al.* (2003), adanya daerah jernih di sekitar kertas cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sutjiati (1990), yang menyatakan bahwa setelah 24 jam masa inkubasi akan tampak daerah bakteri yang tidak tumbuh di sekitar kertas cakram. Gambar dari hasil uji cakram yang lain disajikan pada Lampiran 2.

Kepekaan bakteri terhadap antibiotik dapat diketahui dari diameter daerah hambatan yang terbentuk pada uji cakram. Luas wilayah jernih merupakan petunjuk kepekaan mikroorganisme terhadap antibiotic. Berdasarkan hasil yang diperoleh, diameter daerah hambat (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri) yang terbentuk bervariasi pada masing-masing perlakuan (Fakhri, 2008).

Menurut Lay dan Sugyo (1994), wilayah jernih disekitar kertas cakram dipengaruhi oleh tebal medium, macam medium, inokulum, dan laju difusi antibiotik. Ditambahkan oleh Bonang dan Koeswardono (1982), lebar daerah hambatan disekitar kertas cakram tergantung pada daya serap obat kedalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat yang digunakan

Pengaruh ekstrak pelarut *Geodia sp* yang berbeda terhadap bakteri *Escherecia coli* dan *Vibrio harveyi* dapat diketahui dengan melakukan analisa anova. Hasil analisa anova untuk kedua bakteri dapat dilihat pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Tabel 8. Hasil Analisa Anova Pengaruh Ekstrak Pelarut yang Berbeda Terhadap Bakteri *Escherecia coli*

SK	Db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	3,98852	0,99713	86,07078**	3,06	4,89
Galat	15	0,173775	0,011585			
Total	19	4,162295				

Berdasarkan hasil analisa anova (Tabel 8), dapat diketahui bahwa penggunaan pelarut yang berbeda pada ekstrak *Geodia sp* berbeda sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli*.

Tabel 9. Hasil Analisa Anova Pengaruh Ekstrak Pelarut yang Berbeda Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

SK	Db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	0,17813	0,0445325	16,32243**	3,06	4,89
Galat	15	0,040925	0,0027283			
Total	19	0,219055				



Berdasarkan hasil analisa anova (Tabel 8), dapat diketahui bahwa penggunaan pelarut yang berbeda pada ekstrak *Geodia sp* berbeda sangat nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan, dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 0,05% (selang kepercayaan 95%) maupun taraf 0,01% (selang kepercayaan 99%). Hasil Uji BNT dengan nilai BNT 5% dan 1% serta perhitungannya secara lengkap disajikan pada Lampiran 3.

4.4 Intensitas Kepekaan Bakteri

Intensitas kepekaan bakteri dapat diketahui dengan membandingkan diameter zona hambat dari ekstrak sponge kering pada uji cakram terhadap diameter daerah hambatan antibiotik yang fungsinya sama untuk menghambat bakteri *E.coli* dan *Vibrio harveyi*. Antibiotik yang dimaksud adalah kolistin dan tetrasiklin. Karena keduanya sehari-hari digunakan sebagai antibiotik untuk mengobati penyakit yang pada umumnya disebabkan oleh kedua bakteri tersebut. Kolistin merupakan antibiotik polipeptida dari famili polimiksin, memiliki aktivitas tinggi terhadap bakteri Gram (-) pada saluran pencernaan, terutama *Eschericia coli* dan *Salmonella* (Kalbe, 2010).

Keracunan yang disebabkan oleh bakteri *E.coli* dapat diobati dengan antibiotik kolistin. Antibiotik tetrasiklin dapat diberikan pada penyakit yang sering muncul pada pembenihan udang yang disebabkan karena bakteri *Vibrio harveyi*. Oleh karena itu, untuk mengetahui intensitas kepekaan dari bakteri tersebut dapat dibandingkan dengan diameter zona hambat antibiotik kolistin untuk *E.coli* dan antibiotik tetrasiklin untuk bakteri *Vibrio harveyi*.

Tabel 10. Daftar Ukuran Daerah Hambatan Berbagai Antibiotika dan Khemoterapetika

Antibiotika atau khemoterapetika	Kekuatan cakram	Garis tengah daerah hambatan (mm)		
		resisten	Agak resisten	Peka
Ampisilin				
- Batang gram negative dan enterokokus	10 µg	11 atau kurang	12-13	14 atau lebih
- Stafilokokus dan jasad renik yang peka terhadap penisilin	10 µg	20 atau kurang	21-28	29 atau lebih
- <i>Haemophilus</i>				20 atau lebih
Basitrasin	10 satuan	8 atau kurang	9-12	13 atau lebih
Sefaloridin	30 µg	11 atau kurang	12-15	16 atau lebih
Sefalotin	30 µg	14 atau kurang	15-17	18 atau lebih
Khloramfenikol	30 µg	12 atau kurang	13-17	18 atau lebih
Kolistin	10 µg	8 atau kurang	9-10	11 atau lebih
Eritromisin	15 µg	13 atau kurang	14-17	18 atau lebih
Gentamisin	10 µg			13 atau lebih
Kanamisin	30 µg	13 atau kurang	14-17	18 atau lebih
Linkomisin	2 µg	9 atau kurang	10-14	15 atau lebih
Metisilin	5 µg	9 atau kurang	10-13	14 atau lebih
Nafsilin dan Oxasilin	1 µg	10 atau kurang	11-12	13 atau lebih
"Nalidixin acid"	30 µg	13 atau kurang	14-18	19 atau lebih
Neomisin	30 µg	12 atau kurang	13-16	17 atau lebih
Novobiosin	30 µg	17 atau kurang	18-21	22 atau lebih
Nitrofurantoin	300 µg	14 atau kurang	15-16	17 atau lebih
Oleandomisin	15 µg	11 atau kurang	12-16	17 atau lebih
Penisilin G				
- Staphylococcus	10 satuan	20 atau kurang	21-28	29 atau lebih
- Lain jasad renik	10 satuan	11 atau kurang	12-21	22 atau lebih
Polimixin B	300 unit	8 atau kurang	9-11	12 atau lebih
Streptomisin	10 µg	11 atau kurang	12-14	15 atau lebih
Sulfonamida	300 unit	12 atau kurang	13-16	17 atau lebih
Tetrasiklin	30 µg	14 atau kurang	15-18	19 atau lebih
Vankomisin	30 µg	9 atau kurang	10-11	12 atau lebih

Sumber : Bonang dan Koeswardono (1982)

Dari hasil uji cakram diperoleh ekstrak sponge dengan pelarut klorofom mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherecia coli* dengan diameter zona hambat 7,18 mm dan *Vibrio harveyi* dengan diameter zona hambat 6,24 mm. Diameter zona hambat tersebut jika dibandingkan dengan antibiotik kolistin dan tetrasiklin yang ada di Tabel 10. hasilnya adalah resisten untuk kedua

bakteri. Karena diameter zona hambat *E.coli* 7,18 mm dan dalam Tabel 10. dinyatakan bahwa antibiotik kolistin bersifat resisten jika diameter zona hambatannya 8 mm atau kurang, begitu pula dengan *Vibrio harveyi* yaitu diameter zona hambatnya 6,24 sedangkan dalam Tabel. 10 dinyatakan bahwa jika diameter zona hambat tetrasiklin 14 mm atau kurang juga bersifat resisten. Menurut Wibowo dkk (2008), standar parameter potensi antibiotik dalam pengujian cakram adalah ≥ 11 mm efektif, 11-9 mm intermediet dan ≤ 9 mm tidak efektif dalam menghambat bakteri.

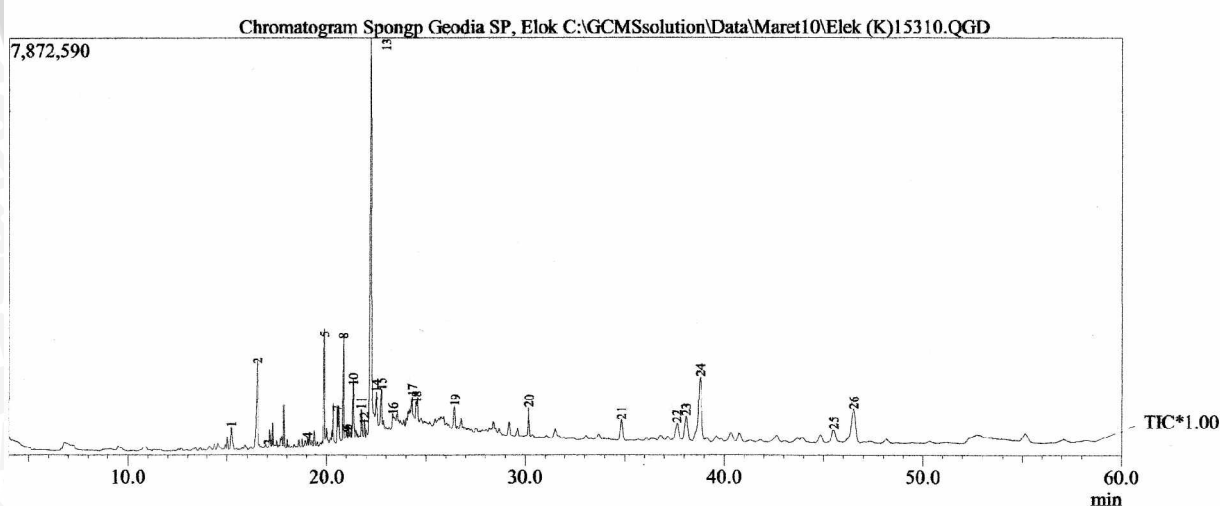
4.5 Analisis GC-MS Ekstrak Sponge

Berdasarkan hasil penelitian, aktivitas antibakteri ekstrak sponge *Geodia* sp. dengan pelarut kloroform mempunyai daya hambat yang paling luas terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Vibrio harveyi*. Oleh karena itu, ekstrak sponge *Geodia* sp.dengan pelarut kloroform dianalisis komposisinya melalui analisis GC-MS (*Gass Chromatography-Mass Spectrometry*) untuk mengetahui senyawa-senyawa antibakteri yang terkandung didalamnya.

Kromatografi gas - spektrometri massa (GC-MS) adalah sebuah metode yang menggabungkan fitur cair kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi zat yang berbeda dalam pengujian sampel (Wikipedia, 2009). Melalui uji GC-MS, ekstrak sponge *Geodia* sp. dengan pelarut kloroform dapat diidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung didalamnya. Senyawa yang teridentifikasi dapat dilihat pada Tabel 11 dan Kromatogram Sponge *Geodia* sp. dapat dilihat pada Gambar 6. Hasil pengujian GC-MS menyatakan bahwa ekstrak kloroform mempunyai 26 peak yang berbeda-beda luas areanya. Tiga % area tertinggi terletak pada titik 13, 24 dan 26. Senyawa- senyawa tersebut dapat digolongkan menjadi 2 golongan yaitu : Asam karboksilat dan steroid/triterpenoid.

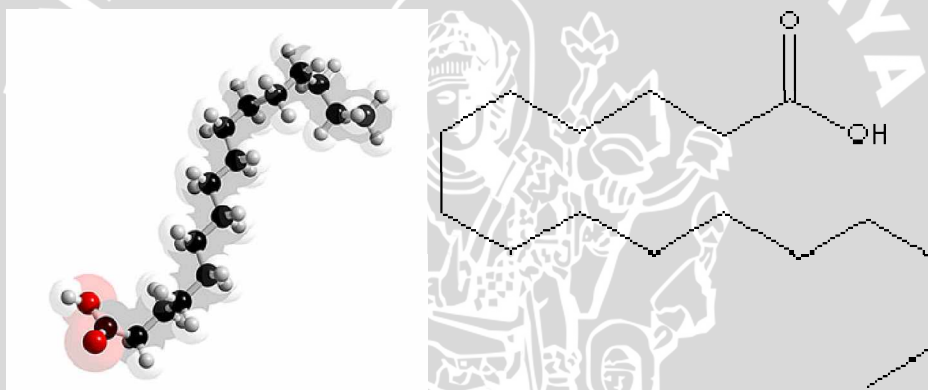
Tabel 11. Senyawa yang Teridentifikasi dalam GC-MS

Peak	Senyawa	Berat Molekul	Rumus Molekul	Luas Area %
1	Methylbenzene	92	C ₇ H ₈	1.48
2	Benzeneacetic acid	166	C ₉ H ₁₀ O ₃	5.58
3	L-Threitol	248	C ₁₃ H ₂₈ O ₄	0.78
4	9- Eicosene	280	C ₂₀ H ₄₀	1.13
5	Tetradecanoic acid	228	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	5.55
6	Heptadecanoate	298	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	2.13
7	Arachic acid	312	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	2.71
8	Neophytadiene	278	C ₂₀ H ₃₈	3.65
9	Lauroyl sarcosine	271	C ₁₅ H ₂₉ N O ₃	1.17
10	Cyclopentene	268	C ₁₈ H ₃₆ O	3.14
11	Palmitaldehyde	240	C ₁₆ H ₃₂ O	1.69
12	Cyclododecane	168	C ₁₂ H ₂₄	0.51
13	Palmitic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	26.09
14	Palmitic acid	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3.53
15	Cyclobutanecarbonitrile	157	C ₁₁ H ₁₁ N	3.26
16	Cyclododecene epoxide	182	C ₁₂ H ₂₂ O	4.02
17	Dodecane,2,6,10trimethyl	212	C ₁₅ H ₃₂	4.21
18	Oleic acid ethyl ester	310	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	1.95
19	Dodecane,2,6,10trimethyl	212	C ₁₅ H ₃₂	1.53
20	Decamethylenediol	174	C ₁₀ H ₂₂ O ₂	1.88
21	Cholest-5-en-3-ol	448	C ₂₈ H ₄₅ ClO ₂	1.99
22	Cholest-5-en-3-ol	448	C ₂₈ H ₄₅ ClO ₂	2.13
23	Cholest-5-en-3-ol	448	C ₂₈ H ₄₅ ClO ₂	2.89
24	Cholest-5-en-3-ol	448	C ₂₈ H ₄₅ ClO ₂	9.12
25	Cholest-5-en-3-ol	448	C ₂₈ H ₄₅ ClO ₂	2.04
26	Cholest-5-en-3-ol	448	C ₂₈ H ₄₅ ClO ₂	5.74



Gambar 6. Kromatogram GC-MS Ekstrak Sponge *Geodia sp.* Kering

Titik tertinggi pertama terdapat pada peak 13 dengan luas area 26.09% dan tingginya 7200358 pada menit ke 22.235. Pada titik ini senyawa bioaktif yang diduga paling dominan adalah Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid dengan formula $C_{16}H_{32}O_2$, senyawa ini mempunyai berat molekul 256. Senyawa ini merupakan senyawa turunan asam karboksilat (Putra, 2007). Asam palmitat, $CH_3(CH_2)_{14}COOH$ atau asam hexadecanoic dalam tatanama IUPAC. Asam palmitat ditemukan oleh Edmond Frémy tahun 1840, di saponified kelapa sawit. Asam palmitat berpenampilan putih kristal, mempunyai kepadatan 0,853 g/cm di $62^{\circ}C$, titik lebur $62,9^{\circ}C$, titik didih $351-352^{\circ}C$ dan $215^{\circ}C$ pada 15 mmHg (Wikipedia, 2010).



Gambar 7. Hexadecanoic acid

Asam palmitat adalah salah satu asam lemak jenuh yang paling umum ditemukan pada binatang dan tanaman. Asam palmitat adalah asam lemak pertama yang diproduksi selama lipogenesis (sintesis asam lemak) dan dari asam lemak yang dapat diproduksi lagi. Asam lemak adalah asam karboksilat alifatik dengan ekor panjang bercabang (rantai), baik jenuh atau yang tak jenuh. Asam lemak berasal dari lemak dan minyak alami dapat diasumsikan memiliki minimal 8 atom karbon. Sebagian besar asam lemak alami memiliki jumlah atom

karbon karena mereka melibatkan biosintesis asetil-KoA, sebuah koenzim membawa sekelompok dua-karbon-atom (Karl, 2007).

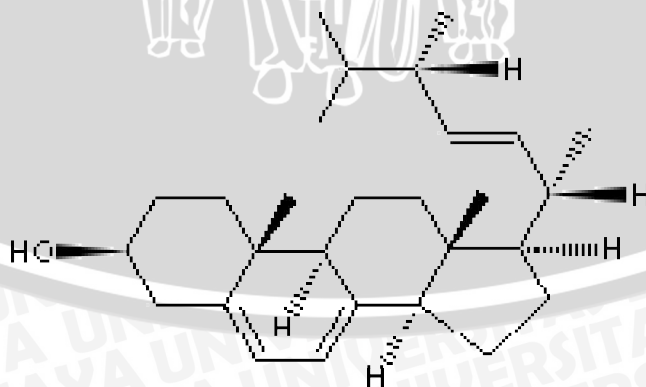
Menurut Kabara and Eklund (1991) dalam Wiyanto (2008), konsentrasi dari asam lemak dengan rantai yang panjang dapat menghambat mikroorganisme khususnya bakteri gram positif, kapang dan khamir. Hal ini didukung oleh Darmadji and Izumimoto (1994) yang menyatakan bahwa, mekanisme kerja hexadecanoid acid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu, hexadecanoid acid mampu untuk menyerap nutrisi yang ada pada bakteri dan memiliki kapasitas untuk menghambat air dan menghalangi system enzim beberapa bakteri.

Titik tertinggi kedua terdapat pada peak 24 dengan luas area 9.21 % dan tingginya 1171175 pada menit ke 38.790. Senyawa bioaktif yang dominan terdapat pada peak 24 antara lain Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3 beta)-\$\$ Cholesteryl bromide yang mempunyai formula $C_{27}H_{45}Br$ dan berat molekul 448 dan Cholest-5-en-3-ol (3 beta)-, carbonochloridate\$\$ Cholesterol chloroformate yang mempunyai formula $C_{28}H_{45}ClO_2$. Kedua senyawa tersebut merupakan turunan senyawa keton steroid/ triterpenoid yang mempunyai fungsi sebagai antibakteri.

Menurut Putra (2007) dalam Wiyanto (2008), mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba, adalah dengan merusak membran plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan kematian sel. Diduga hal tersebut disebabkan karena molekul steroid memiliki gugus non polar (hidrofobik) dan polar (hidrofilik) sehingga memiliki efek surfaktan yang dapat melarutkan komponen fosfolipid membran plasma. Fosfolipid merupakan komponen dominan yang menyusun membran plasma sel mikroba.

Titik tertinggi ketiga terdapat pada peak 26 dengan luas area 5.74 % dan tingginya 584470 pada menit ke 46.521. Senyawa bioaktif yang diduga pada peak ini sama dengan senyawa dominan pada peak 24 yaitu Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3 beta)-\$\$ Cholesteryl bromide yang mempunyai formula $C_{27}H_{45}Br$ dan berat molekul 448, Cholest-5-en-3-ol (3 beta)-, carbonochloridate\$\$ Cholesterol chloroformate yang mempunyai formula $C_{28}H_{45}ClO_2$ dan ditambah senyawa Ergosta-7,22-dien-3-ol, (3.beta.,22E)- (CAS) 5,6-Dihydroergosterol yang mempunyai formula $C_{28}H_{46}O$, berat molekulnya 398. Ergosterol juga merupakan salah satu struktur dari senyawa triterpenoid.

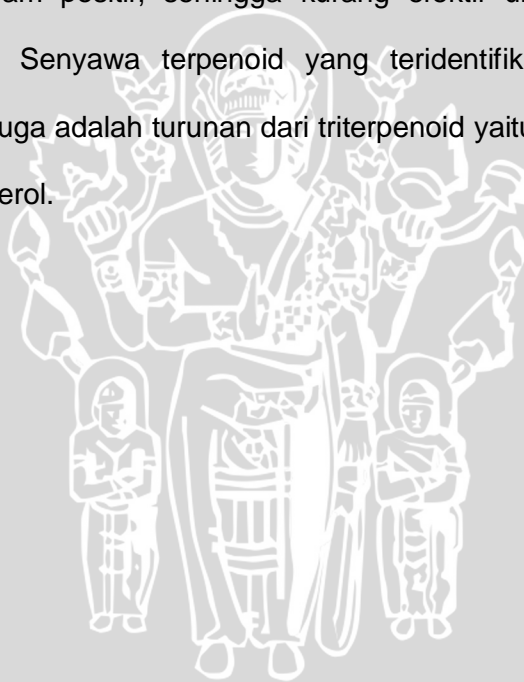
Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang nisbi rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Triterpenoid dapat dipilah menjadi sekurang-kurangnya empat golongan senyawa : triterpena sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida jantung. Kedua golongan yang terakhir sebenarnya triterpena atau steroid yang terutama terdapat sebagai glikosida. Senyawa ini dan senyawa sekerabatnya berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangan dan serangan mikroba (Harborne, 1987).



Gambar 8. Ergosterol

Senyawa dominan yang sering muncul/ teridentifikasi paling banyak adalah cholest-5-en-3-ol pada peak 21 sampai peak 26. Sedangkan senyawa yang teridentifikasi sebagian besar adalah kelompok dari asam karboksilat yang merupakan asam lemak jenuh yang efektif menghambat bakteri gram positif.

Untuk membunuh atau menghambat bakteri gram negatif seperti *E.coli* dan *Vibrio harveyi* diperlukan senyawa metabolit sekunder terpenoid, tetapi dalam ekstrak sponge kering, senyawa terpenoid yang terkandung hanya sedikit sehingga kurang efektif untuk menghambat bakteri ini. Apalagi senyawa yang memiliki puncak paling tinggi dan luas adalah asam palmitat yang dapat membunuh bakteri gram positif, sehingga kurang efektif untuk menghambat bakteri gram negatif. Senyawa terpenoid yang teridentifikasi yang mampu membunuh bakteri diduga adalah turunan dari triterpenoid yaitu cholest-5-en-3-ol (kolesterol) dan ergosterol.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

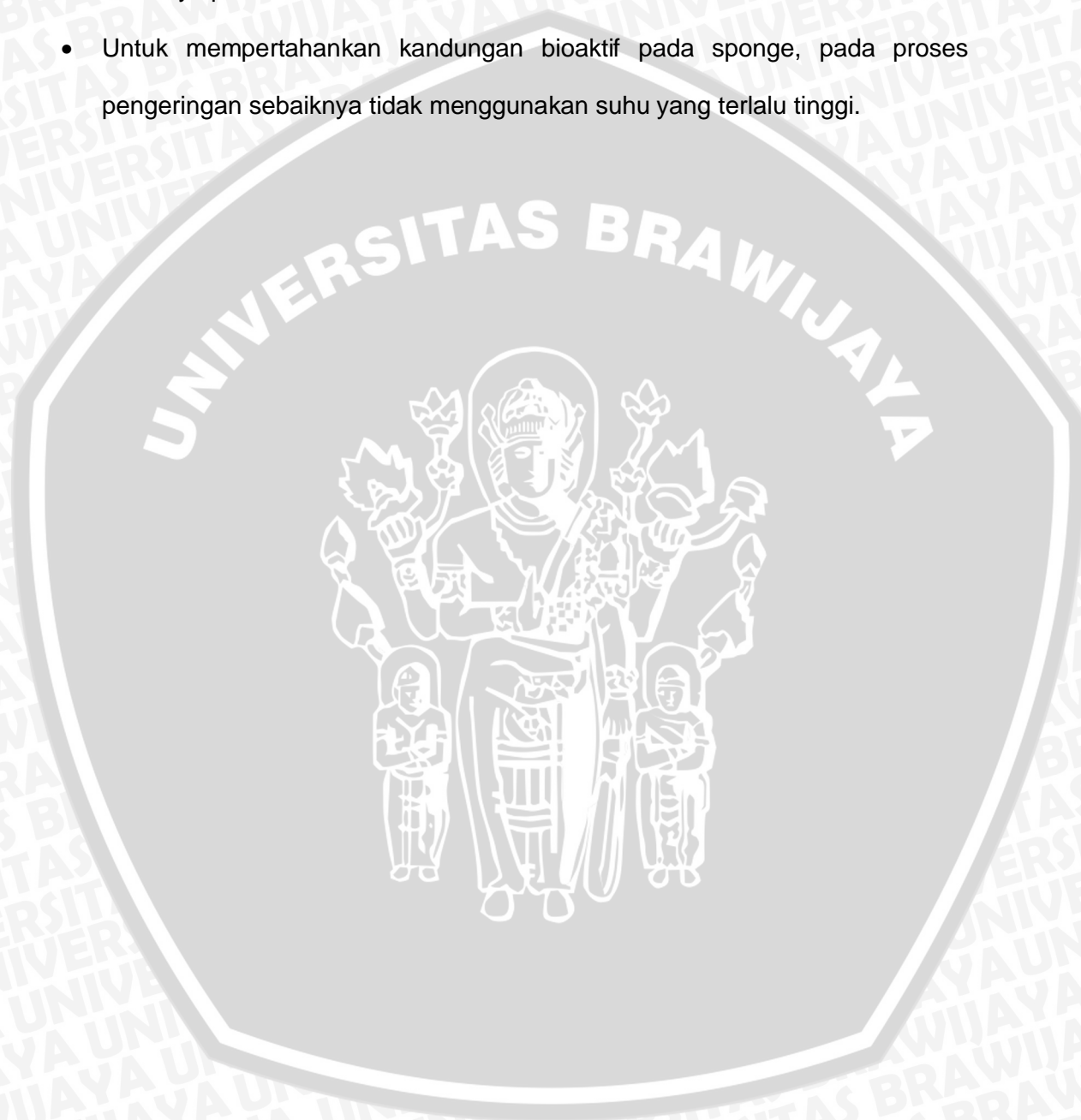
5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini antara lain sebagai berikut :

- Ekstrak karang lunak *Geodia* sp. dapat menghambat aktivitas bakteri *E.coli* dan *Vibrio harveyi*.
- Dari kelima pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sponge *Geodia* sp. yang paling efektif digunakan untuk penghambatan aktivitas bakteri adalah pelarut kloroform.
- Senyawa bioaktif yang terkandung dalam sponge *Geodia* sp. kering dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GCMS) antara lain Hexadecanoic acid (CAS)/ Palmitic acid, Cholest-5-en-3-ol (3 beta)/ Cholesterol chloroformate, Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3 beta)/ Cholesteryl bromide , Ergosta-7, 22-dien-3-ol. Senyawa tersebut merupakan turunan dari senyawa asam karboksilat dan steroid/ triterpenoid yang berfungsi untuk menolak serangan mikroba.
- Ekstrak sponge dengan pelarut kloroform lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dari pada bakteri *Vibrio harveyi* hal ini dapat dilihat dari rerata zona hambat mencapai 7,18 untuk bakteri *E.coli* dan 6,24 untuk bakteri *Vibrio harveyi*. Sehingga ekstrak sponge dalam menghambat aktivitas bakteri belum dapat dimaksimalkan pada bidang budidaya perairan.

5.2 Saran

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk penggunaan dan aplikasi dari hasil ekstrak sponge *Geodia sp.* untuk bakterisidal dalam bahan pangan dan budidaya perikanan.
- Untuk mempertahankan kandungan bioaktif pada sponge, pada proses pengeringan sebaiknya tidak menggunakan suhu yang terlalu tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- Agung, M. U. K., 2007. Penelusuran Efektifitas Beberapa Bahan Alam Sebagai Kandidat Antibakteri Dalam Mengatasi Penyakit Vibriosis Pada Udang Windu. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran.Jatinangor
- Ahmad, T., E. Suryati., and Muliani. 1995. Sponge bioactive screening for bactericide in shrimp culture. *Indonesia Fisheries Research Journal*. Vol. 1 (1): 1-10.
- Barnes, R.D. 1980. *Invertebrata Zoology*. 4th ed. Philadelphia: Saunders college.
- Bauman, P. A. L., Furniss and I. V. Lee. 1984. Facultatively Anaerobic Gram Negatif Rods: Genus *Vibrio*. In Krieg N. R. and J. G (ED). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins Baltimore. USA. 518-538 pp.
- Bellarmine. 2010. Sepon. <http://cas.bellarmine.edu.com>. Diakses tanggal 8 April 2010 pukul 15.50 WIB.
- Biology questions. 2009. Phylum Porifera Review. <http://biology-questions-and-answers.com>. Diakses tanggal 8 April 2010 pukul 15.51 WIB.
- Bonang, G. dan E. S. Koeswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik. PT. Gramedia. Jakarta. 199 hal.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen, A.M., 2001, Jawetz, Melnick, and Adelberg's, Mikrobiologi Kedokteran, Alih bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L., Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Buckingham, J. dan Vonoghy. 1982. *Dictionary of Organic Compounds*. Chapman and Hill Press. New York.
- Dahuri, R., 2003, *Keanekaragaman Hayati Laut*, Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Day, R.A and Underwood. 1999. Analisis Kimia Kuantitatif. Penerbit Erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka.
- De Paola, A., J. Ulaszek, C. A. Kaysner, and B. J. Tenge, "Molecular, Serological, and Virulence Characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Environmental, Food, and Clinical Sources in North America and Asia", *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 2003, 3999-4005
- Dwidjoseputro, D. 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.

Edrada, R.A., Wray, V., Handayani, D., Schupp, P., Balbin-Oliveros, M., and Proksch, P., 2000, Structure –Activity Relationship of Bioactive Metabolites from Some Indo-Pasific Marine Invertebrates, in Studies in Natural Products Chemistry, Atta-ur-Rahman (Ed), Elsevier Science, 21, 251 – 254.

Fao. 2010. Sponge Culture. Fao Corporate Document Repository. <http://fao.org>. Diakses tanggal 8 April 2010 pukul 16.13 WIB.

Fakhri, M. 2008. Uji Efektivitas Ekstrak Sponge (*Acanthella cavernosa*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* secara In-Vitro. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

Fatmawaty. 2009. Kloroform. <http://kisahfathe.blogspot.com/2009/02/kloroform.html>. Diakses tanggal 7 April 2010. Pukul 18.45 WIB.

Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan Kedua. ITB Bandung. Bandung. Penerjemah Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro. 147 hal.

Harris L. J. and Owens L. 1999. Production of Exotoxin By Two Luminous *Vibrio harveyi* Strains Known To Be Primary Pathogens of *Penaeus monodon* Larvae. Disease of Aquatic Organisms Vol. 38. Department Microbiology and Immunology, James Cook University and The Cooperative Research Centre For Aquaculture. Australia. Hal 11-12. <http://www.cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=1987158>. Diakses tanggal 20 April 2008.

Hart, H. 1983. Kimia Organik. Houghton Mifflin Co. Michigan State University. USA. Erlangga. Jakarta. Penerjemah Suminar, A.

Hawley, R., 2003, Enterotoxigenic *Escherichia coli*, diakses tanggal 26 Mei 2008 dari <http://vm.cfsan.fda.gov/mov/chap14.html>.

Hirasawa, M., Shouji, N., Neta, T., Fukushima dan Tanada, K. 1999. Three Kinds of Antibacterial Substances From *Lentinus edobes* (Berk) Sing. Shintake an Edible Mushroom. International Journal of Antibacterial Agents 11.

Hooper, JNA dan van Soest RWM, 2002. Systema Porifera: a Guide to the Classification of Sponges. Klu-Wer wer Academic/Plenum Publishers, New York.

Hoyle, B. 2010. *Escherichia coli*. <http://science.jrank.org>. Diakses 8 April 2010 pukul 16.48 WIB.

Huda, R. 2008. Antimikroba Mekanisme Kerja Antibiotik. <http://blogspot.com>

Inglish, V., J. Roberts, and N. R. Bromage. 1993. Bacterial Disease of Fish. Institute of Aquaculture. Blackwell Science Ltd. Oxford. 312 hal.

- Jawetz, E., Melnick, and Andelberg. 1984. Review of Medical Microbiology. Diterjemahkan Gerrad Bonang. CV EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 51 hal.
- Jones, WC, 1994. Process-formation by aquarium kept sponge and its relevance to sponge ecology and taxon omy In : RWM van Soest, TMG van Kempen and J. C. Braekman, eds., Sponges in time and space, Balkema Press, Rotterdam, hal 241-250.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Disease of Fish Culture in Tropic. Taylor and Francis Ltd. London. 317pp.
- Kalbe, F. 2010. Sogecoli (Large Animal). <http://www.kalbe.co.id/product-260-sogecoli-large-animal.html>. Diakses tanggal 2 Juni 2010 pukul 00.46 WIB.
- Karl, H. 2007. Hexadecanoic Acid. [http:// hexadecanoic acid @ 3Dchem.com](http://hexadecanoic acid @ 3Dchem.com). Diakses tanggal 4 April 2010 pukul 19.52 WIB.
- Kusmiyati dan N. W. S Agustini. 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentu*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong 16911
- Lady, A. 2008. Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Spons Asal Perairan Pulau Menjangan dan Identifikasi Golongan Senyawa Penyusun Fraksi Aktif. [http:// fbaugm.wordpress.htm](http://fbaugm.wordpress.htm)
- Lay,B.H.1994. Anailisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lay, B. W. dan Sugyo, H. 1994. Mikrobiologi. Rajawali Pers. Jakarta.
- Lin, GC, 1991. Sponge aquaculture in Micronesia. Foreign aquatic Resources 2 : 18-20.
- Liu, LY dan Zheng GM, 1997. Zoology (Version 3) High Education Publishing Company, Beijing.
- Lux. 2009. Photobacterium leiognathi, Vibrio harveyi, Vibrio fischeri). <http://lux.ibp.ru/info/history.htm>.
- Medicafarma. 2009. Ekstraksi. <http://medicafarma.blogspot.com>
- Merck. 2010. 104367 n-Heksana. http://www.merck-chemicals.co.id/n-heksana/MDA_CHEM-104367/p_W.Sb.s1LthUAAAEWtOEFVhTI. Diakses 7 April 2010 pukul 19.22 WIB.
- Multiply. 2009. Manfaat Sponge laut. <http://multiply.com>
- Muniarsih T, dan Rachmaniar R. 1999. Isolasi Substansi Bioaktif Antimikroba dari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu. *Prosiding Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I '98*. Jakarta 14 – 15 Oktober

1998: 151 - 158. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Jakarta, 1999.

Nursid, M., Hedi I. J., dan E. Chasanah. 2008. Purifikasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Spons *Aptos* sp. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 3 No. 1, Juni 2008.

Osinga, R., EH, Belarbi and EM, Grima, 2003. Grogress towards a controlled culture of the marine sponge *Pseudosuberites andrewsi* in a bioreactor. *Journal of Biotechnology* 100: 141-146.

Pelczar MJ, Chan ECS. 1986 *Dasar-dasar Mikrobiologi I*. Diterjemahkan oleh Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia;. 489-522 hal.

_____. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi I*. Diterjemahkan oleh Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia;. 508 hal.

Pedersen, K.L., L. Verdonck, B. Austin, D.A. Austin, A.R. Blanch, P.A.D. Grimont, J. Jofre, S. Koblavi, J.L. Larsen, T. Tiainen, M. Vigneulle, and J. Swings. 1998. Taxonomic evidence that *Vibrio carchariae* Grimes et al., 1985 is a junior synonym of *Vibrio harveyi* (Johnson and Shunk, 1936), Baumann et al., 1981, *Int. J. Sys. Bacteriol.* 48:749-758.

Porifarma. 2007. Sustainable production: sponge culture to obtain sponge natural products. <http://www.sponges.nl>. Diakses tanggal 8 April 2010 pukul 16.14 WIB.

Pradhika, E. I. 2009. Mikro-Ba Nget. <http://www.blogspot.com>

Prayitno, A. 1995. Antigen *Vibrio* Luminescent yang Telah Dilemahkan Guna Meningkatkan Imunitas Benur Udang Windu (*Penaeus monodon*). Fakultas Perikanan. UNIBRAW. Malang. 53 hal.

Prajitno, A., Herawati, E. Y. dan Hariati, A. M. 1988. Strategi Pengaturan Salinitas dan Pemberian Serbuk Jamur Merang sebagai Penanggulangan Penyakit Kunang-Kunang (*Vibrio spp*) pada Udang Windu di Mini Backyard. Laporan Akhir Hasil Penelitian tidak diterbitkan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 40 hal.

_____. A. 2005. Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 104 hal.

Pronzato, R., Manconi, R., 1994. Life history of *Ephudatia fluviatilis* : A model for adaptive strategies in discontinuous habitats. In : RWM van Soest, TMG Kempen and JC Braekman, eds., *Sponges in Time and Space*, Balkema Press, Rotterdam. hal 327-332.

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.

Rahayu, S. 2009. Ekstraksi. http://Ekstraksi_Chem-Is-Try.Org_Situs_Kimia_Indonesia_.htm.

Richelle-Maurer, E., Y. Degoudenne, G. Vande Vyver and L. Dejonghe, 1994. Some aspects of the ecology of Belgian freshwater sponges. In : RWM van Soest, TMG. van Kempen and JC Braekman, eds., Sponges in Time and Space. Balkema Press, Rotterdam. hal 351-354.

Rukyani, A., P. Taufik dan Tauhid. 1992. Penyakit kunang-kunang (luminescence vibrios) di hatchery udang windu dan cara penanggulangan penyakit benur di hatchery udang. J. Litbang Pert. 2:1 -17

Salle, A. J. 1961. Fundamental Principles of Bacteriology. Mc Graw-Hill Book Company, inc. New York. 812 pp.

Sarles. 2010. Tinjauan Pustaka. <http://sarles.blog.friendster.com/files/bab-ii-tinjauan-pustaka2.pdf>. Diakses 8 April 2010 pukul 7.07 WIB.

Sartika, R. A. D, Yvonne M. Indrawani dan Trini, S. 2005. Analisis Mikrobiologi *Escherichia coli* O157:H7 Pada Hasil Olahan Hewan Sapi Dalam Proses Produksinya. Departemen Gizi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia. *MAKARA, KESEHATAN, VOL. 9, NO. 1, JUNI 2005: 23-28*

Setyowati, E. P, Umar, A. J., Sudarsono, Broto, K. Rachmaniar, R. dan Edy M. 2007. Isolasi senyawa sitotoksik spons Kaliapsis. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Shewan, J. M and M. Veron. 1974. Gram- Negative facultatively Anaerobic Rods: Genus 1 *Vibrio*. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins Baltimore. USA. p 340-345

Simpson, TL, 1984. *The Cell Biology of Sponges*. Springer Press, New York.

Silaonang, M. F. 2008. *Vibrio parahaemolyticus* Penyebab Gastroenteritis. <http://mikrobia.wordpress.com>

Streitweiser, Andrew Jr.; Heathcock, Clayton H. (1976). *Introduction to Organic Chemistry*. MacMillan. ISBN 0-02-418010-6.

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

Sujatmiko, W., 2000, *Inventarisasi Jenis Spon Disekitar Perairan Pulau Lombok dan Garam Di Pulau Sumbawa Nusa Tenggara Barat*, Kerjasama :

Yayasan Rinjani Bahari, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Badan Perencanaan dan Pembangunan Propinsi Nusa Tenggara Barat.

Supardi, Imam dan Sukanto, 1999, Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan, Alumni, Bandung.

Suparno. 2005. Kajian Bioaktif Spons Laut (Forifera : Demospongiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia Dalam Dibidang Farmasi. Makalah Pribadi Falsafah Sains (PPs 7002) Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

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

Sutjiati, M. 1990. Penyakit Ikan. NUFFIC/ UNIBRAW/ LUW/ FISH fisheries project. Universitas Brawijaya. Malang. 184 hal.

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

Wibowo, W., Jane Gulimar and M. Alamsyah. 008. Standar Parameter Potensi Antibiotik Kajian Antibiotik Dalam Tinjauan Mikrobiologi. ITB. Bandung

Wikipedia. 2009. Pelarut. <http://wikipedia.org>

_____. 2010. Escherichia coli. <http://wikipedia.org>

_____. 2010. Vibrio Harveyi. <http://wikipedia.org>

_____. 2009. Kromatografi gas-spektrometri massa. <http://wikipedia.org>

Winarsih, S., Dzen S. M dan Santoso S. 2003. Bakteriologi Medik. Tim Mikrobiologi FK Univesitas Brawijaya. Malang. 373 hal.

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

Wu, SY, 1995. Biology of porifera. Bulletin of Biology 30 (2): 8-9.

Yalun. 2008. Mengenal Bakteri Escherichia coli. <http://yalun.wordpress.com>

Yuherman. ,2001. Molecular Characterization of Vibrio Species Isolated From Sea Water, P.hD Thesis, Faculty of Food and Biotechnology, Universitas Putra Malaysia, Selangor, Malaysia.

Qu Yi, Wei, Z., Hua, Li., Xingju, Y., dan J. Meifang. 2005. Cultivation of marine sponges. Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China. Dalian

Institute of Chemistry and Physics, Chinese Academy of Sciences,
Dalian 116023, China. Chinese Journal of Oceanology and
Limnology Vol. 23 No 2, P. 194-198, 2005.



Lampiran 1. Proses Ekstraksi



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12





13



14



15



16



17



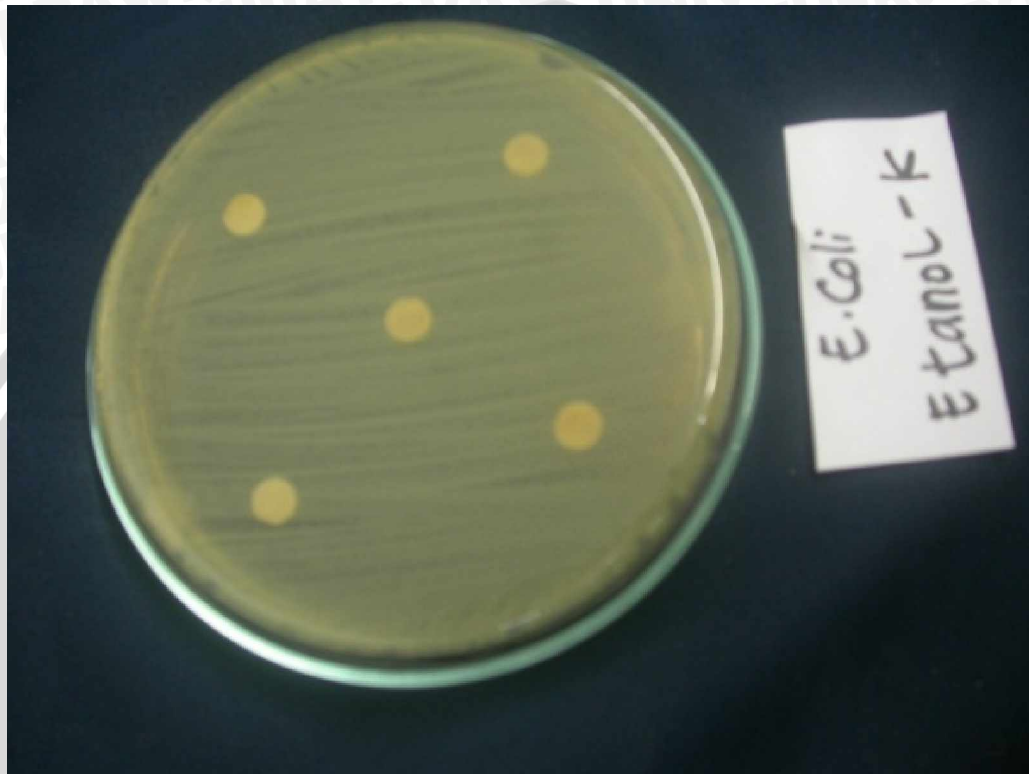
Keterangan:

1. Persiapan Sponge *Geodia sp.*
2. Penghilangan batu-batu dan karang keras yang masih menempel
3. Memotong-motong sponge sampai halus
4. Hasil potongan sponge
5. Penataan potongan sponge pada loyang
6. Pengovenan potongan sponge dalam oven dengan suhu 60°C selama 180 menit
7. Penimbangan sponge yang sudah kering setelah di oven
8. Penuangan pelarut dalam sponge dengan perbandingan 1:1
9. Pengadukan pelarut dengan sponge
10. Penutupan dengan alumunium foil dan dibiarkan selama 3x24 jam
11. Penyaringan pelarut setelah maserasi
12. Proses penyaringan
13. Hasil penyaringan
14. Proses stirer untuk pemekatan pelarut air
15. Proses Pemekatan pelarut dengan rotary evaporator untuk pelarut etanol dan methanol
16. Proses pemekatan pelarut dengan tiupan gas N₂ untuk pelarut hexan dan kloroform
17. Ekstrak sponge yang diperoleh.

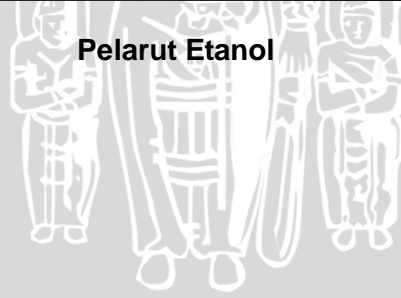


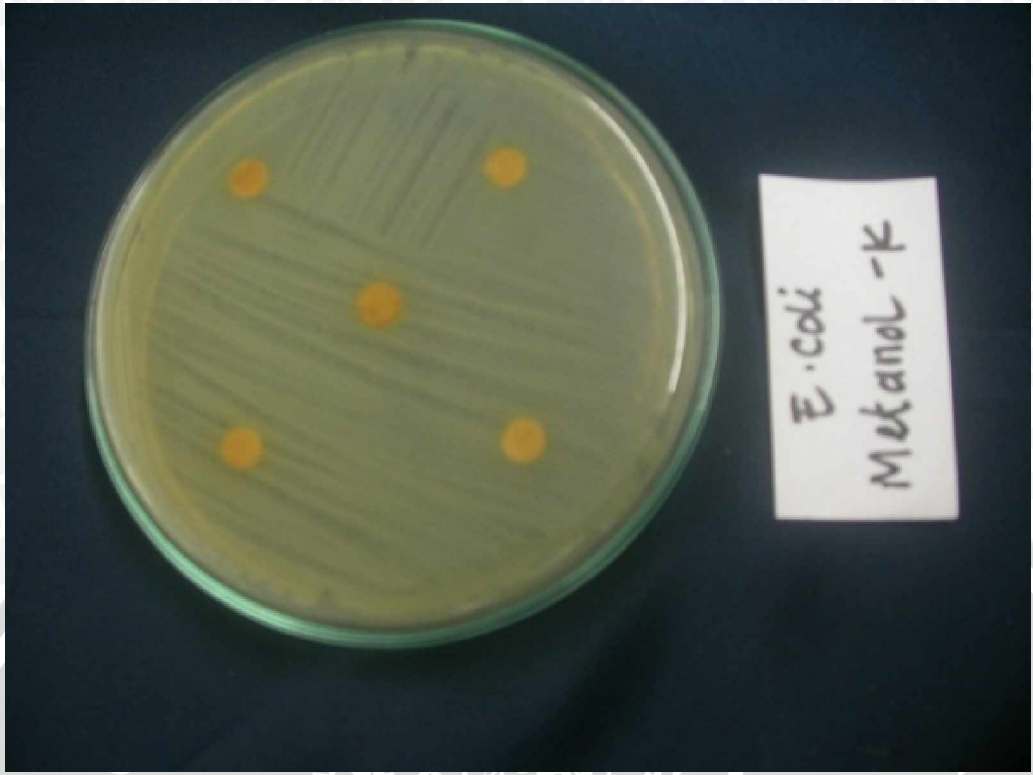
Lampiran 2. Hasil Uji Cakram

1. Hasil Uji Cakram terhadap Bakteri *E. coli*

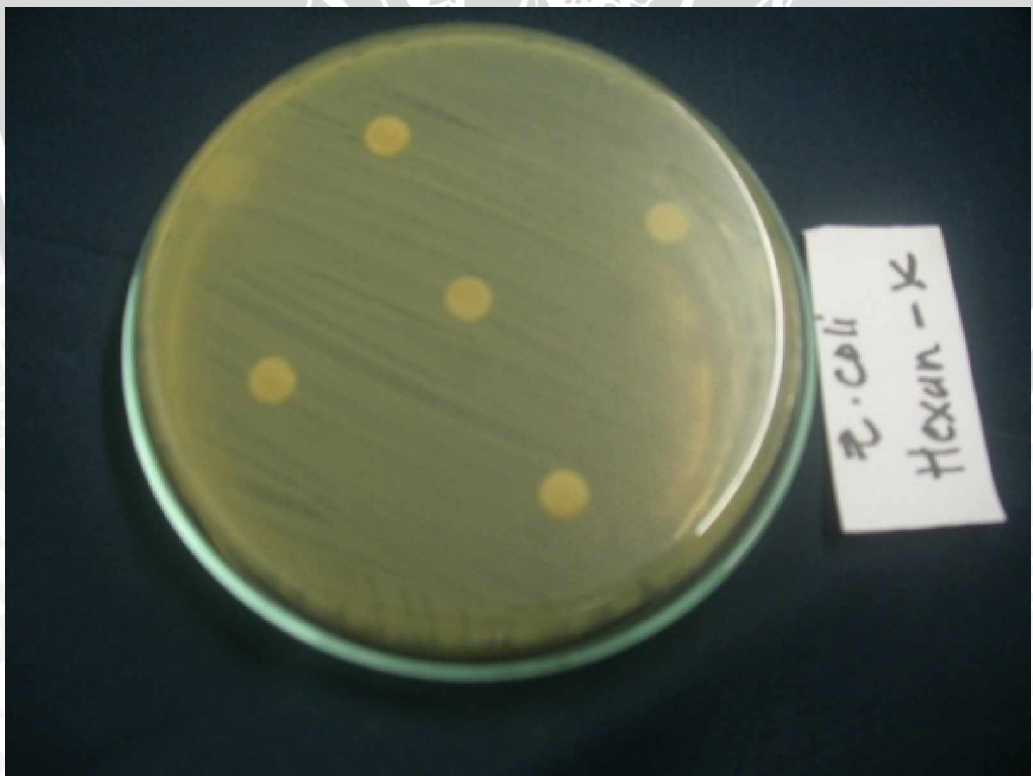


Pelarut Etanol



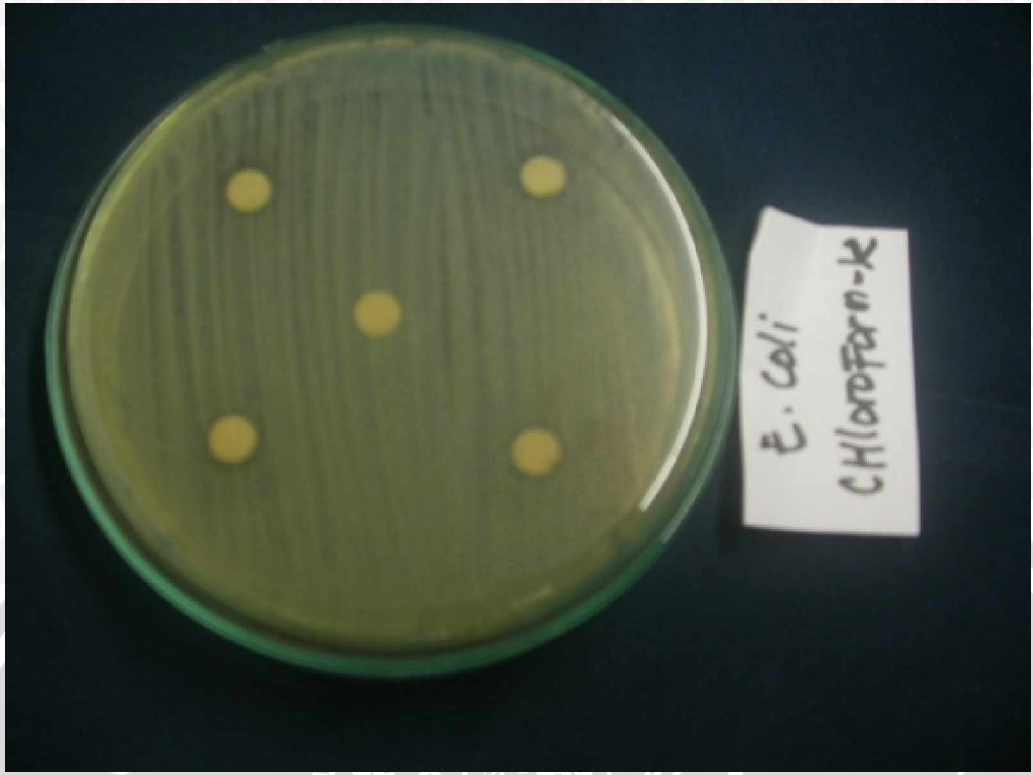


Pelarut Metanol

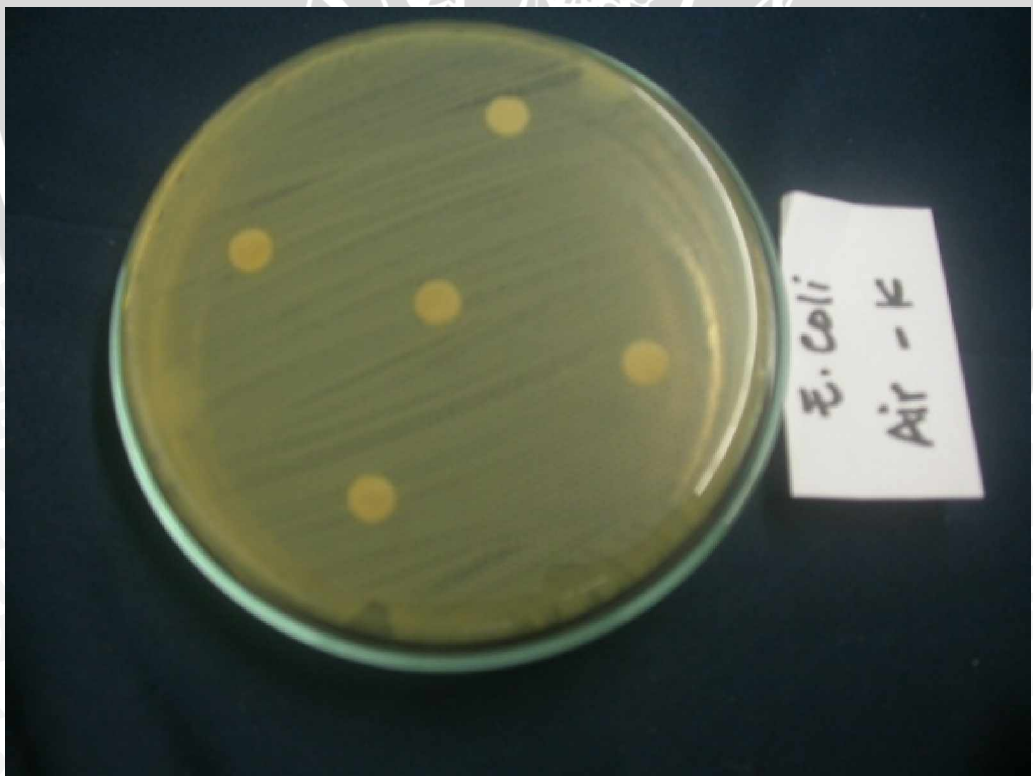


Pelarut Hexan





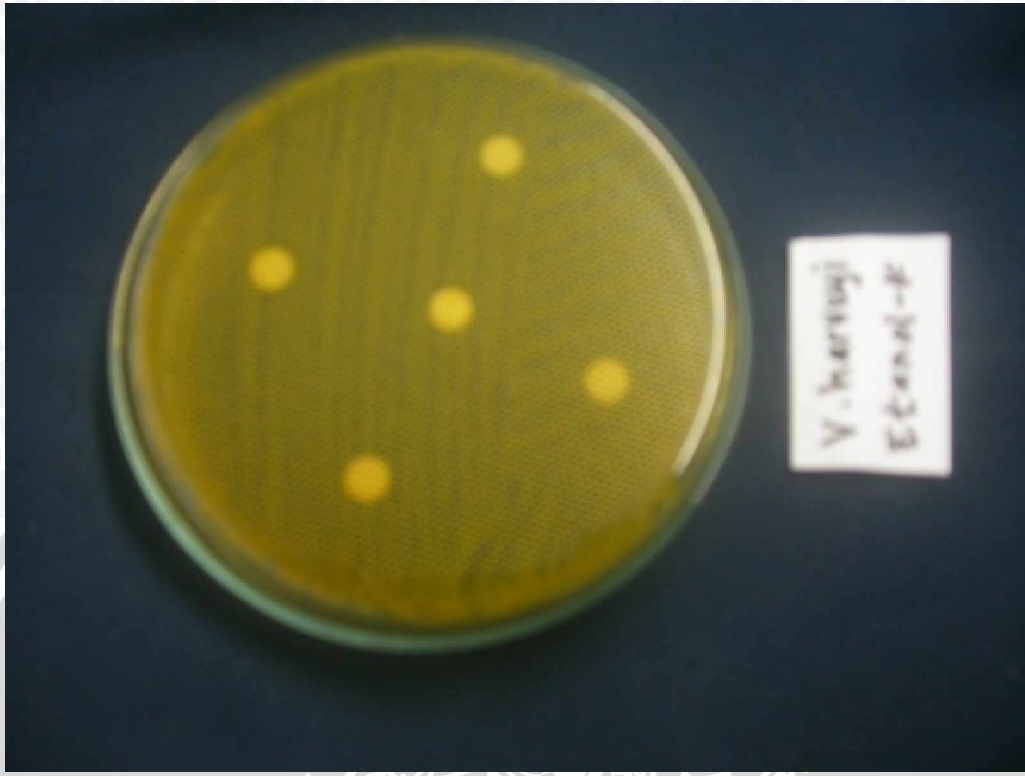
Pelarut Kloroform



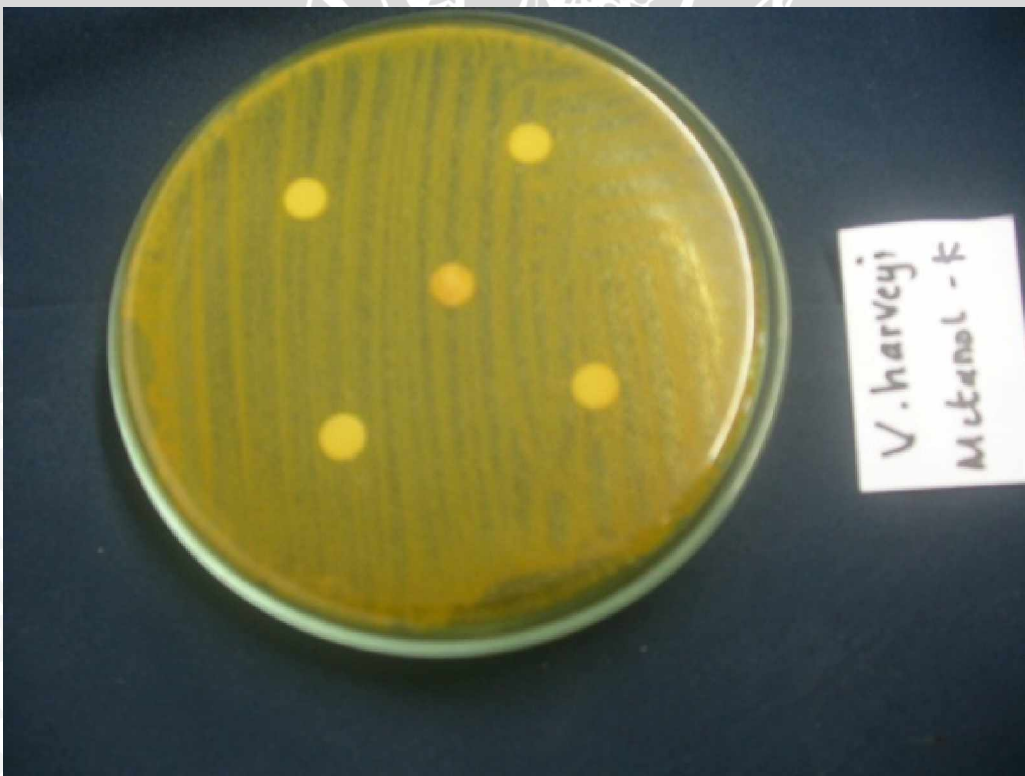
Pelarut Air



2. Hasil Uji Cakram terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

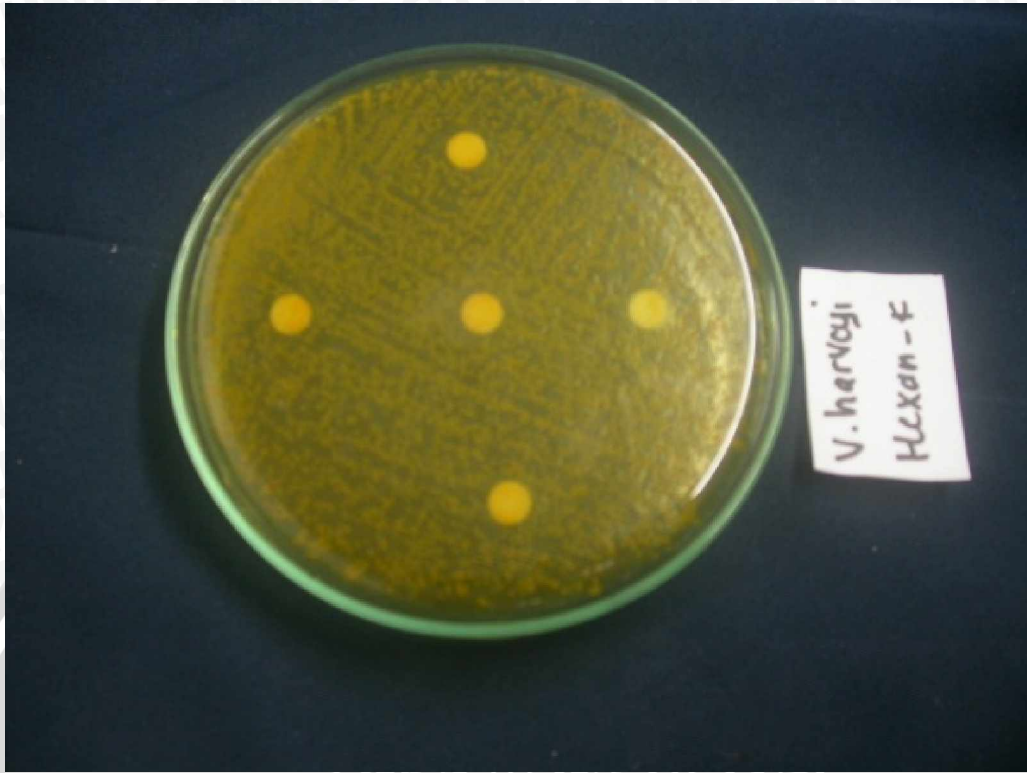


Pelarut Etanol

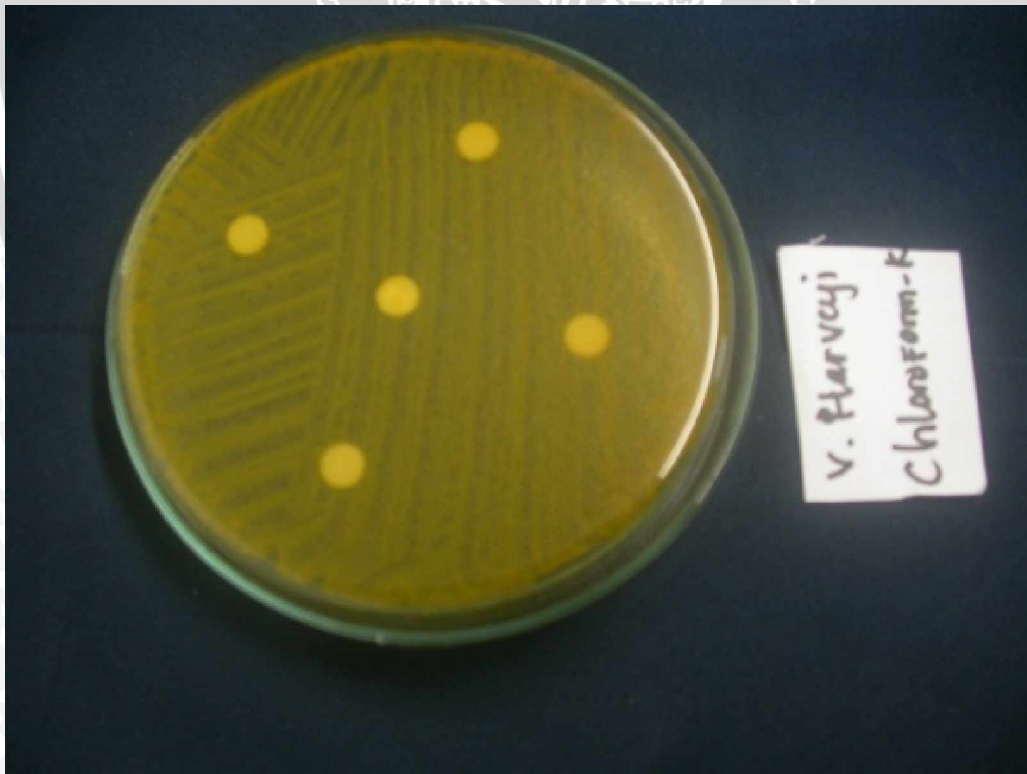


Pelarut Metanol

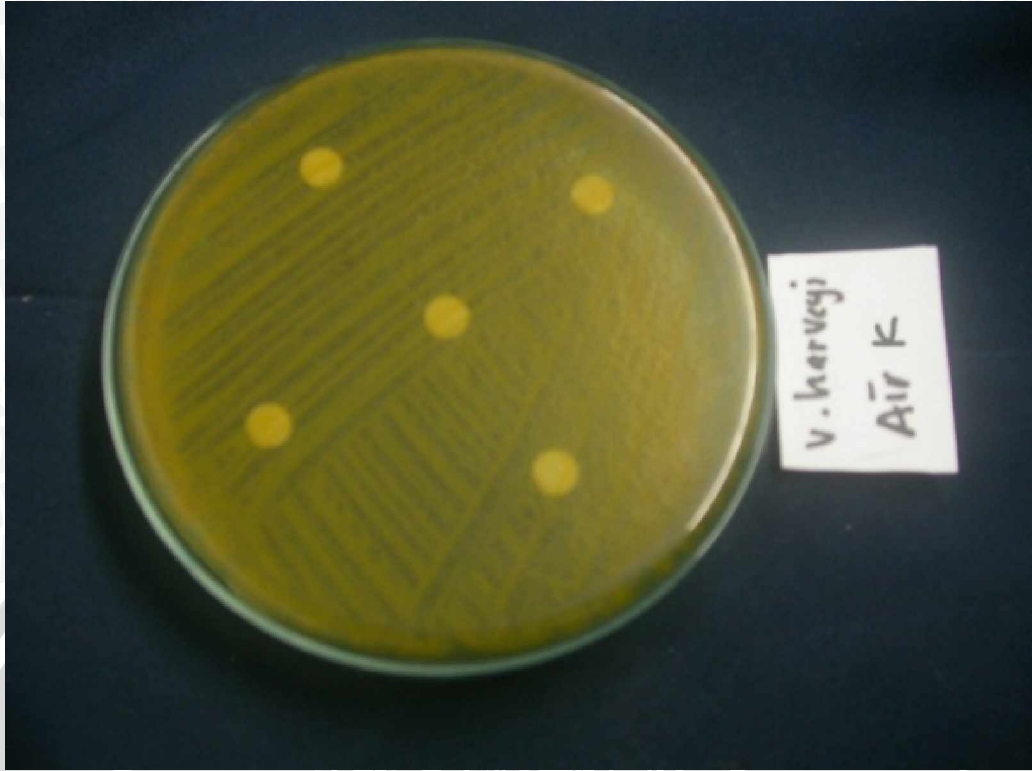




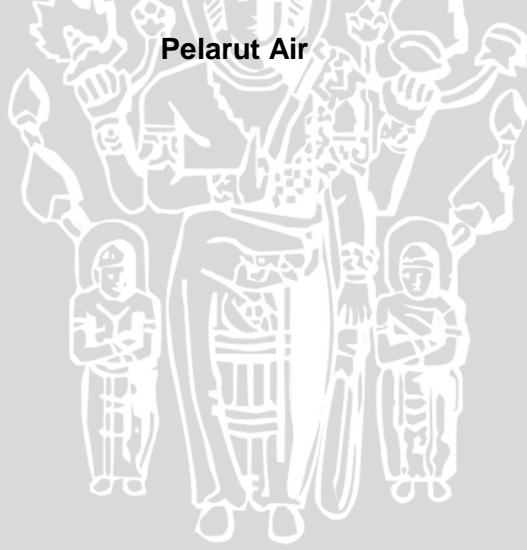
Pelarut Hexan



Pelarut Kloroform



Pelarut Air



Lampiran 3. Analisis Data

UJI MIC EKSTRAK HERBAL METODE DIFUSI CAKRAM DISK

1. Eschericia coli

Pelarut	ZONA HAMBAT					Total	Rerata
	Kontr ol	I	II	III	IV		
Air		6,03	6,02	6,02	6,02	24,09	6,02
Chlorofom		7,35	6,83	7,24	7,28	28,70	7,18
Etanol		6,04	6,06	6,04	6,04	24,18	6,05
Hexan		6,19	6,23	6,11	6,19	24,72	6,18
Metanol		6,02	6,01	6,05	6,02	24,10	6,03
Total		31,63	31,15	31,46	31,55	125,79	

Hipotesis:

H₀ = T₁ = T₂ = T₃ = T₄ = T₅ = 0

H₁ = paling tidak ada sepasang T₁ yang tidak sama

$$FK = \frac{(\sum \text{total})^2}{n} = \frac{125,79^2}{20} = 791,156205$$

$$\begin{aligned} JK \text{ total} &= \text{Jumlah kuadrat masing - masing pengulangan} - FK \\ &= (6,03^2 + 6,03^2 \dots + 6,02^2) - 791,156205 \\ &= 795,3185 - 791,156205 \\ &= 4,162295 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ perlakuan} &= \frac{(24,09^2 + 28,70^2 + 24,18^2 + 24,72^2 + 24,10^2)}{4} - 791,156205 \\ &= 795,144725 - 791,156205 \\ &= 3,98852 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ galat} &= JK \text{ total} - JK \text{ perlakuan} \\ &= 4,162295 - 3,98852 = 0,173775 \end{aligned}$$

Anova

SK	Db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	3,98852	0,99713	86,07078**	3,06	4,89
Galat	15	0,173775	0,011585			
Total	19	4,162295				

Keterangan :

* berbeda nyata

** berbeda sangat nyata

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 luas zona hambat menandakan semakin banyak zat antibakteri yang berhasil diekstrak dan semakin efektif aktivitas antibakterinya.

Menentukan pelarut mana yang paling potensial

a. Uji BNT 5%

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

$$\begin{aligned} BNT_{0,05} &= t_{0,05(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0,011585}{4}} \\ &= 2,131 \times 0,0761 \\ &= 0,1621 \end{aligned}$$

Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata	Air (6,02)	Metanol (6,03)	Etanol (6,05)	Heksan (6,18)	Kloroform (7,18)
Air (6,02)	-	0,01	0,03	0,16	1,16*
Metanol (6,03)	-	-	0,02	0,15	1,15*
Etanol (6,05)	-	-	-	0,13	1,13*
Heksan (6,18)	-	-	-	-	1
Kloroform (7,18)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,05} = 0,1621)	A	A	a	a	B

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

b. Uji BNT 1%

$$\begin{aligned}
 BNT_{0,01} &= t_{0,01(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0,011585}{4}} \\
 &= 2,947 \times 0,7610 \\
 &= 0,2242
 \end{aligned}$$

Kolom Notasi BNT 1%

Rata-rata	Air (6,02)	Metanol (6,03)	Etanol (6,05)	Heksan (6,18)	Kloroform (7,18)
Air (6,02)	-	0,01	0,03	0,16	1,16*
Metanol (6,03)	-	-	0,02	0,15	1,15*
Etanol (6,05)	-	-	-	0,13	1,13*
Heksan (6,18)	-	-	-	-	1
Kloroform (7,18)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,01} = 0,2242)	a	A	a	a	B

Ket: * = nilai tengah > BNT_{0,01}

Perlakuan	Rata-rata (mm ²)	Notasi atas BNT 0,05	Notasi BNT 0,01
Air	6,02	a	a
Metanol	6,03	a	a
Etanol	6,05	a	a
Heksan	6,18	a	a
Kloroform	7,18	b	b

Kesimpulan:

Berdasarkan BNT 0,05 dan 0,01 didapatkan hasil bahwa pelarut yang terbaik untuk melakukan proses ekstraksi antibakteri pada sponge dengan bakteri uji *E. coli* adalah kloroform dengan rata-rata luas daerah hambatan adalah 7,18 mm².

2. *Vibrio harveyi*

Pelarut	Zona hambat					Total	Rerata
	Kontrol	I	II	III	IV		
Air		6,03	6,03	6,01	6,02	24,09	6,02
Chloroform		6,22	6,10	6,32	6,30	24,94	6,24
Etanol		6,04	6,04	6,03	6,02	24,13	6,03
Hexan		6,19	6,25	6,11	6,21	24,76	6,19
Metanol		6,01	6,01	6,02	6,01	24,05	6,01
Total		30,49	30,43	30,49	30,56	121,97	

Hipotesis:

H₀ = T₁ = T₂ = T₃ = T₄ = T₅ = 0

H₁ = paling tidak ada sepasang T₁ yang tidak sama

$$FK = \frac{(\sum \text{total})^2}{n} = \frac{121,97^2}{20} = 743,834045$$

$$\begin{aligned} JK \text{ total} &= \text{Jumlah kuadrat masing - masing pengulangan} - FK \\ &= (6,03^2 + 6,03^2 \dots + 6,01^2) - 743,834045 \\ &= 744,0531 - 743,834045 \\ &= 0,219055 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ perlakuan} &= \frac{(24,09^2 + 24,94^2 + 24,13^2 + 24,76^2 + 24,05^2)}{4} - 743,834045 \\ &= 744,012175 - 743,834045 = 0,17813 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JK \text{ galat} &= JK \text{ total} - JK \text{ perlakuan} \\ &= 0,219055 - 0,17813 = 0,040925 \end{aligned}$$

Anova

SK	Db	JK	KT	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	4	0,17813	0,0445325	16,32243**	3,06	4,89
Galat	15	0,040925	0,0027283			
Total	19	0,219055				

Keterangan :

* berbeda nyata

** berbeda sangat nyata

Kesimpulan : F hitung > F tabel

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

Interpretasi :

Penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap efektivitas proses ekstraksi antibakteri pada sponge. Perbedaan luas zona hambat menandakan semakin banyak zat antibakteri yang berhasil diestrak dan semakin efektif aktivitas antibakterinya.

Menentukan pelarut mana yang paling potensial.

a. Uji BNT 5%

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

$$\begin{aligned} BNT_{0,05} &= t_{0,05(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0,0027283}{4}} \\ &= 2,131 \times 0,036 \\ &= 0,0787 \end{aligned}$$

Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata	Metanol (6,01)	Air (6,02)	Etanol (6,03)	Heksan (6,19)	Kloroform (6,24)
Metanol (6,01)	-	0,01	0,02	0,18*	0,23*
Air (6,02)	-	-	0,01	0,17*	0,22*
Etanol (6,03)	-	-	-	0,16*	0,21*
Heksan (6,19)	-	-	-	-	0,05
Kloroform (6,24)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,05} = 0,0787)	A	A	a	b	B

Ket: * = nilai tengah > BNT_{0,01}

b. Uji BNT 1%

$$\begin{aligned}
 BNT_{0,01} &= t_{0,01(15)} \times \sqrt{\frac{2 \times 0,0027283}{4}} \\
 &= 2,947 \times 0,036 \\
 &= 0,1088
 \end{aligned}$$

Kolom Notasi BNT 1%

Rata-rata	Metanol (6,01)	Air (6,02)	Etanol (6,03)	Heksan (6,19)	Kloroform (6,24)
Metanol (6,01)	-	0,01	0,02	0,18*	0,23*
Air (6,02)	-	-	0,01	0,17*	0,22*
Etanol (6,03)	-	-	-	0,16*	0,21*
Heksan (6,19)	-	-	-	-	0,05
Kloroform (6,24)	-	-	-	-	-
Notasi (BNT _{0,01} = 0,1088)	A	A	a	b	B

Ket: * = nilai tengah > BNT_{0,01}

Perlakuan	Rata-rata (mm ²)	Notasi atas BNT 0,05	Notasi BNT 0,01
Metanol	6,01	a	a
Air	6,02	a	a
Etanol	6,03	a	a
Heksan	6,19	b	b
Kloroform	6,24	b	b

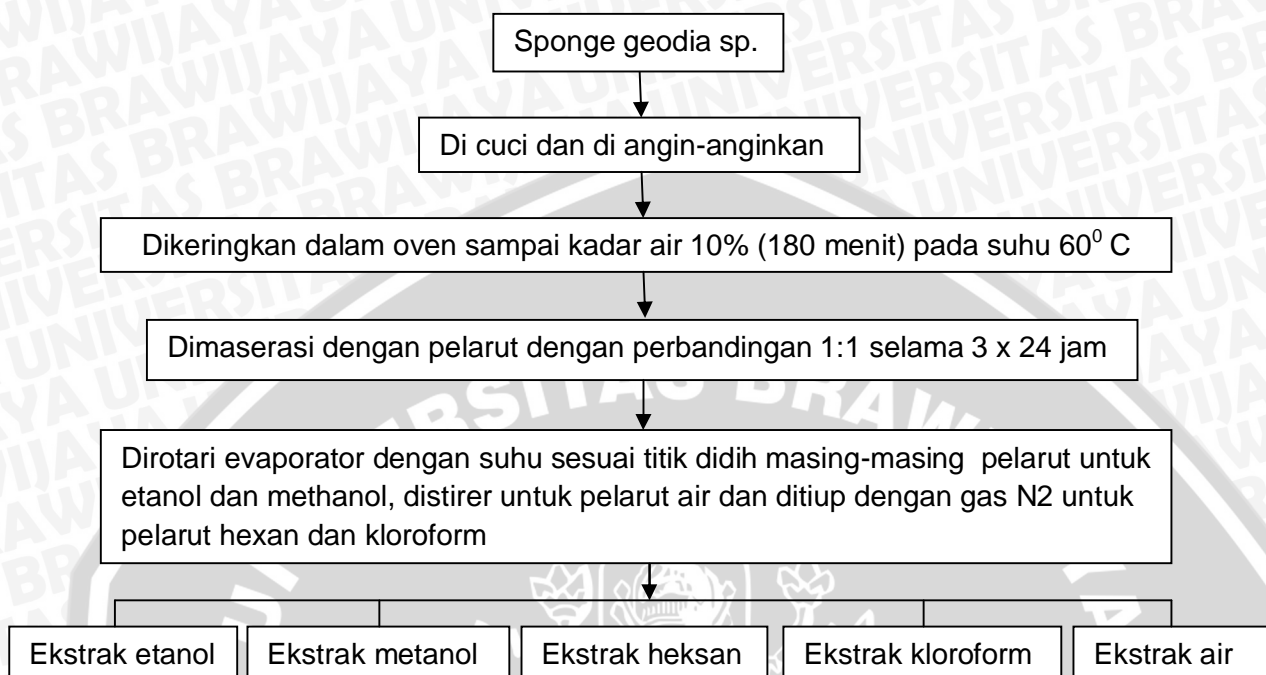


Kesimpulan:

Berdasarkan BNT 0,05 dan 0,01 didapatkan hasil bahwa pelarut yang terbaik untuk melakukan proses ekstraksi antibakteri pada sponge dengan bakteri uji *E. coli* adalah kloroform dengan rata-rata luas daerah hambatan adalah 6,24 mm².



Lampiran 4. Diagram Alir Prosedur Ekstraksi sponge *Geodia sp.*



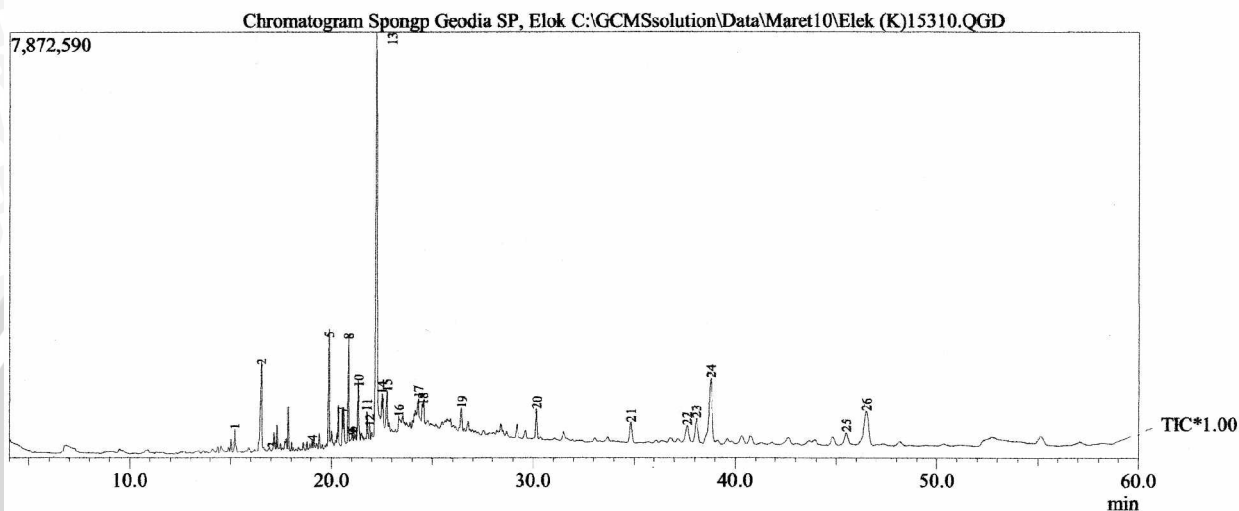
Lampiran 5. Hasil Analisis GC-MS



Lab.Kimia Organik FMIPA - UGM

Sample Information

Analyzed by : Admin
 Sample Name : Spong Geodia SP, Elok
 Sample ID : 228.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Maret10\Elek (K)15310.QGD
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Maret10\Elok.qgm
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\januari 26.qgt



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Peak Report Height	TIC Name
1	15.217	15.117	15.392	2233527	1.48	402530	
2	16.513	16.292	16.692	8419753	5.58	1595770	
3	17.092	17.042	17.742	1177851	0.78	22860	
4	19.067	19.017	19.742	1697812	1.13	129463	
5	19.883	19.742	20.142	8371450	5.55	1894216	
6	20.271	20.142	20.492	3206893	2.13	221359	
7	20.559	20.492	20.742	4094818	2.71	563516	
8	20.842	20.742	20.917	5512595	3.65	1841602	
9	21.042	20.917	21.192	1772489	1.17	169302	
10	21.339	21.192	21.442	4740095	3.14	1096692	
11	21.767	21.442	21.842	2550992	1.69	475325	
12	21.917	21.842	21.967	774696	0.51	267468	
13	22.235	21.967	22.442	39370158	26.09	7200358	
14	22.492	22.442	22.642	5326090	3.53	756461	
15	22.760	22.642	22.942	4923696	3.26	757773	
16	23.342	22.942	23.967	6070255	4.02	267484	
17	24.298	23.967	24.442	6358252	4.21	491322	
18	24.517	24.442	24.642	2940454	1.95	374969	
19	26.441	26.267	26.542	2301125	1.53	414685	
20	30.174	30.067	30.292	2841294	1.88	529159	
21	34.848	34.642	35.067	2996615	1.99	366030	
22	37.644	37.392	37.867	3217768	2.13	302964	
23	38.099	37.867	38.367	4359282	2.89	437470	
24	38.790	38.392	39.042	13892590	9.21	1171175	
25	45.514	45.242	45.817	3076348	2.04	218916	
26	46.521	46.192	46.867	8653339	5.74	584470	
				150880237	100.00	22553339	





GCMS-QP2010S SHIMADZU
 Kolom :Rastek RXi-5MS
 Panjang : 30 meter
 ID : 0,25 mm
 Gas pembawa : Helium
 Pengionan : EI
 70 Ev

Method

[Comment]

==== Analytical Line 1 =====

[GC-2010]

Column Oven Temp. :100.0 °C
 Injection Temp. :290.00 °C
 Injection Mode :Splitless
 Sampling Time :1.00 min
 Flow Control Mode :Pressure
 Pressure :22.0 kPa
 Total Flow :80.1 mL/min
 Column Flow :0.50 mL/min
 Linear Velocity :26.3 cm/sec
 Purge Flow :3.0 mL/min
 Split Ratio :153.0
 High Pressure Injection :OFF
 Carrier Gas Saver :OFF
 Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	100.0	5.00
10.0	290.0	16.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven : Yes
 SPL1 : Yes
 MS : No

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier : Yes
 SPL1 Purge : Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait :No
 Equilibrium Time :1.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010]

IonSourceTemp :250.00 °C
 Interface Temp. :300.00 °C
 Solvent Cut Time :3.80 min
 Detector Gain Mode :Relative
 Detector Gain :0.00 kV
 Threshold :0

[MS Table]

Group : 1
 Start Time :4.00min
 End Time :40.00min
 ACQ Mode :Scan
 Interval :0.50sec
 Scan Speed :1250
 Start m/z :28.00
 End m/z :600.00

Sample Inlet Unit :GC

[MS Program]

Use MS Program :OFF

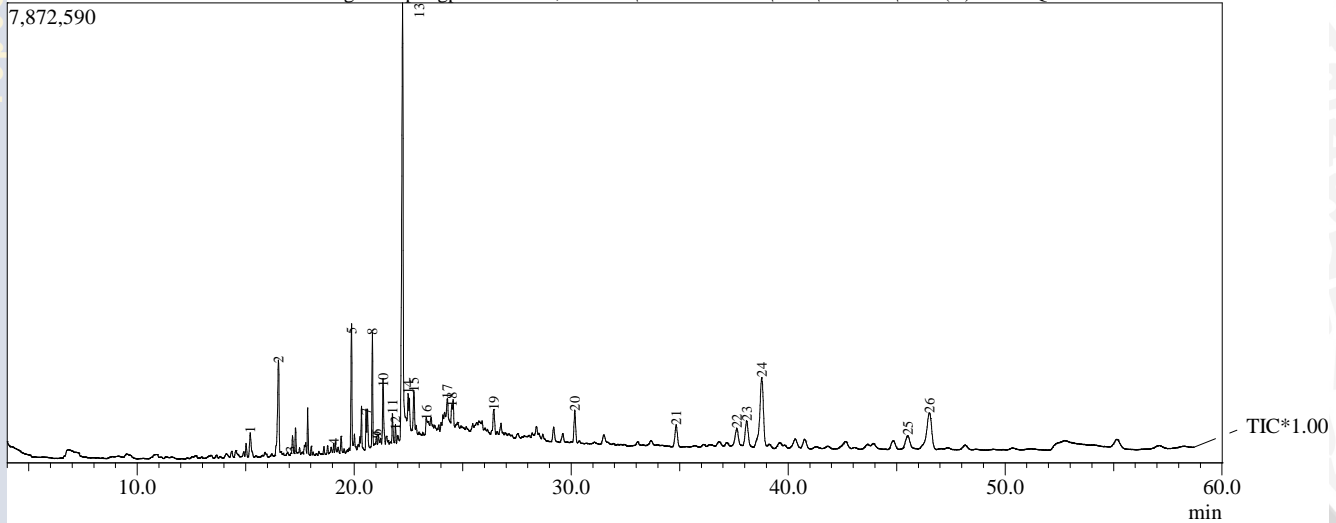




Sample Information

Analyzed by : Admin
 Sample Name : Spong Geodia SP, Elok
 Sample ID : 228.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Maret10\Elek (K)15310.QGD
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Maret10\Elok.qgm
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\januari 26.qgt

Chromatogram Spong Geodia SP, Elok C:\GCMSsolution\Data\Maret10\Elek (K)15310.QGD



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Peak Report TIC Height Name
1	15.217	15.117	15.392	2233527	1.48	402530
2	16.513	16.292	16.692	8419753	5.58	1595770
3	17.092	17.042	17.742	1177851	0.78	22860
4	19.067	19.017	19.742	1697812	1.13	129463
5	19.883	19.742	20.142	8371450	5.55	1894216
6	20.271	20.142	20.492	3206893	2.13	221359
7	20.559	20.492	20.742	4094818	2.71	563516
8	20.842	20.742	20.917	5512595	3.65	1841602
9	21.042	20.917	21.192	1772489	1.17	169302
10	21.339	21.192	21.442	4740095	3.14	1096692
11	21.767	21.442	21.842	2550992	1.69	475325
12	21.917	21.842	21.967	774696	0.51	267468
13	22.235	21.967	22.442	39370158	26.09	7200358
14	22.492	22.442	22.642	5326090	3.53	756461
15	22.760	22.642	22.942	4923696	3.26	757773
16	23.342	22.942	23.967	6070255	4.02	267484
17	24.298	23.967	24.442	6358252	4.21	491322
18	24.517	24.442	24.642	2940454	1.95	374969
19	26.441	26.267	26.542	2301125	1.53	414685
20	30.174	30.067	30.292	2841294	1.88	529159
21	34.848	34.642	35.067	2996615	1.99	366030
22	37.644	37.392	37.867	3217768	2.13	302964
23	38.099	37.867	38.367	4359282	2.89	437470
24	38.790	38.392	39.042	13892590	9.21	1171175
25	45.514	45.242	45.817	3076348	2.04	218916
26	46.521	46.192	46.867	8653339	5.74	584470
				150880237	100.00	22553339



Lab Kimia Organik FMIPA - UGM

GCMS-QP2010S SHIMADZU
 Kolom :Rastek RXi-5MS
 Panjang : 30 meter
 ID : 0.25 mm
 Gas pembawa : Helium
 Pengionan : EI
 70 Ev

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[GC-2010]

Column Oven Temp. :100.0 °C
 Injection Temp. :290.00 °C
 Injection Mode :Splitless
 Sampling Time :1.00 min
 Flow Control Mode :Pressure
 Pressure :22.0 kPa
 Total Flow :80.1 mL/min
 Column Flow :0.50 mL/min
 Linear Velocity :26.3 cm/sec
 Purge Flow :3.0 mL/min
 Split Ratio :153.0
 High Pressure Injection :OFF
 Carrier Gas Saver :OFF

Oven Temp. Program	Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-		100.0	5.00
10.0		290.0	16.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven : Yes
 SPL1 : Yes
 MS : No

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier : Yes
 SPL1 Purge : Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait :No
 Equilibrium Time :1.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010]

IonSourceTemp :250.00 °C
 Interface Temp. :300.00 °C
 Solvent Cut Time :3.80 min
 Detector Gain Mode :Relative
 Detector Gain :0.00 kV
 Threshold :0

[MS Table]

Group : 1
 Start Time :4.00min
 End Time :40.00min
 ACQ Mode :Scan
 Interval :0.50sec
 Scan Speed :1250
 Start m/z :28.00
 End m/z :600.00

Sample Inlet Unit :GC

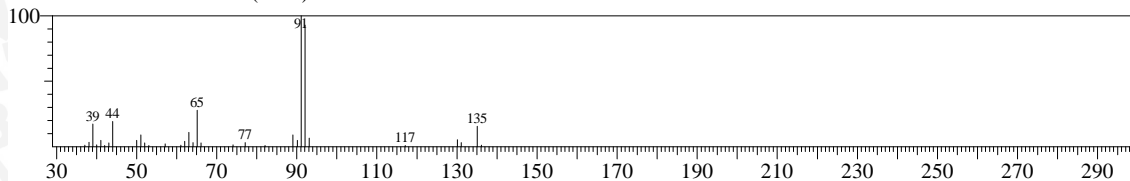
[MS Program]

Use MS Program :OFF

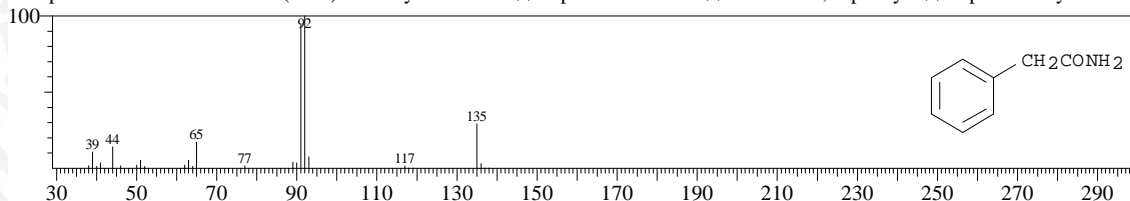
Library

<< Target >>

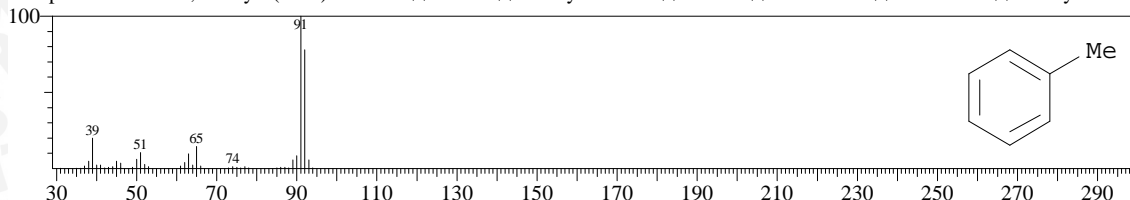
Line#:1 R.Time:15.217(Scan#:1347) MassPeaks:32
 RawMode:Single 15.217(1347) BasePeak:91.10(99657)
 BG Mode:Peak Start 15.117(1335)



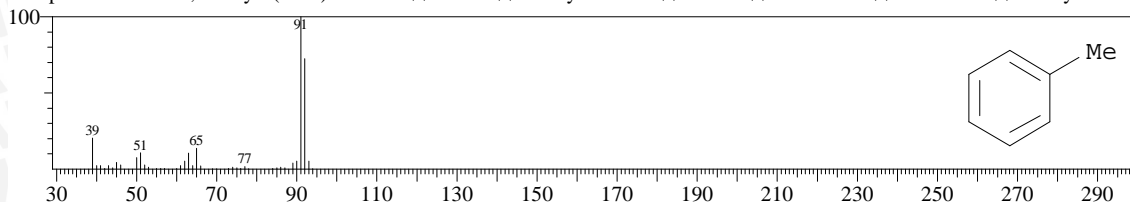
Hit#:1 Entry:24759 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C8 H9 N O CAS:103-81-1 MolWeight:135 RetIndex:0
 CompName:Benzenacetamide (CAS) 2-Phenylacetamide \$\$.alpha.-Toluamide \$\$ Acetamide, 2-phenyl- \$\$.alpha.-Phenylacetami



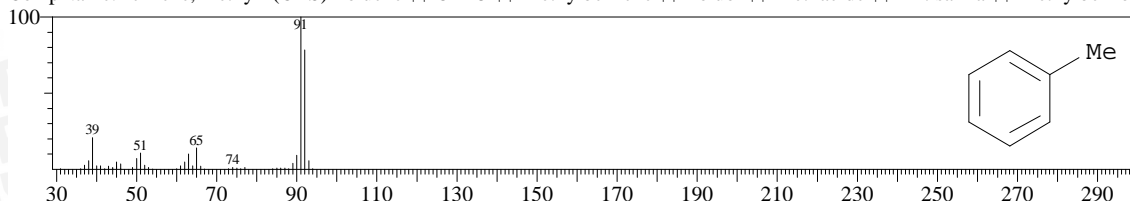
Hit#:2 Entry:4671 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C7 H8 CAS:108-88-3 MolWeight:92 RetIndex:0
 CompName:Benzene, methyl- (CAS) Toluene \$\$ CP 25 \$\$ Methylbenzene \$\$ Toluol \$\$ Methacide \$\$ Antisal 1a \$\$ Methylbenzol



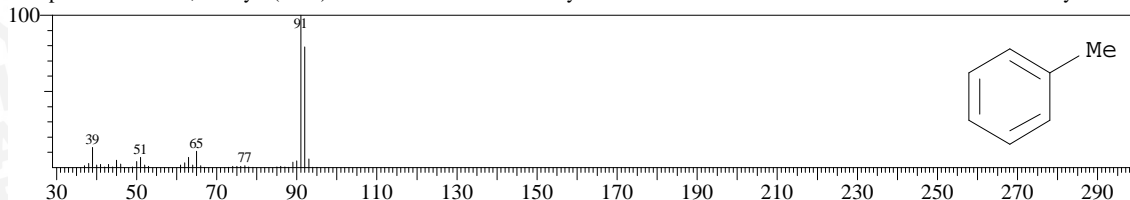
Hit#:3 Entry:4667 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C7 H8 CAS:108-88-3 MolWeight:92 RetIndex:0
 CompName:Benzene, methyl- (CAS) Toluene \$\$ CP 25 \$\$ Methylbenzene \$\$ Toluol \$\$ Methacide \$\$ Antisal 1a \$\$ Methylbenzol



Hit#:4 Entry:4673 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C7 H8 CAS:108-88-3 MolWeight:92 RetIndex:0
 CompName:Benzene, methyl- (CAS) Toluene \$\$ CP 25 \$\$ Methylbenzene \$\$ Toluol \$\$ Methacide \$\$ Antisal 1a \$\$ Methylbenzol

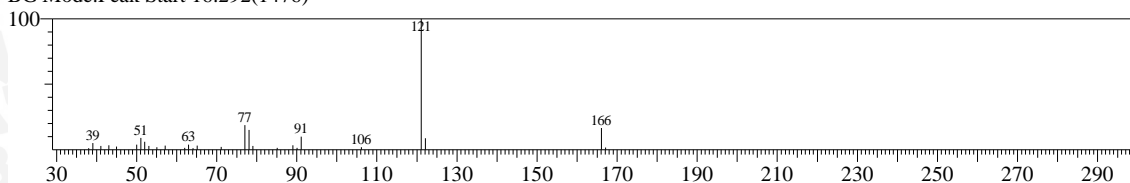


Hit#:5 Entry:4674 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C7 H8 CAS:108-88-3 MolWeight:92 RetIndex:0
 CompName:Benzene, methyl- (CAS) Toluene \$\$ CP 25 \$\$ Methylbenzene \$\$ Toluol \$\$ Methacide \$\$ Antisal 1a \$\$ Methylbenzol

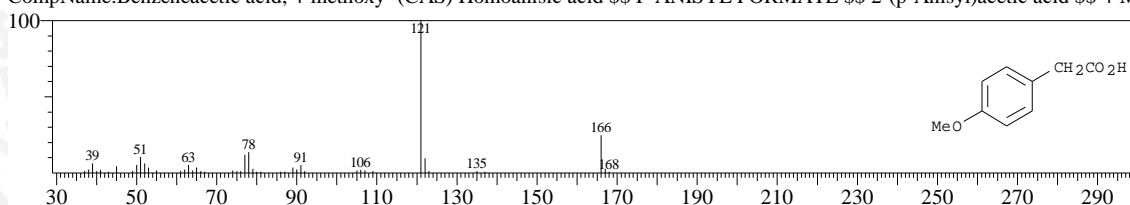


<< Target >>

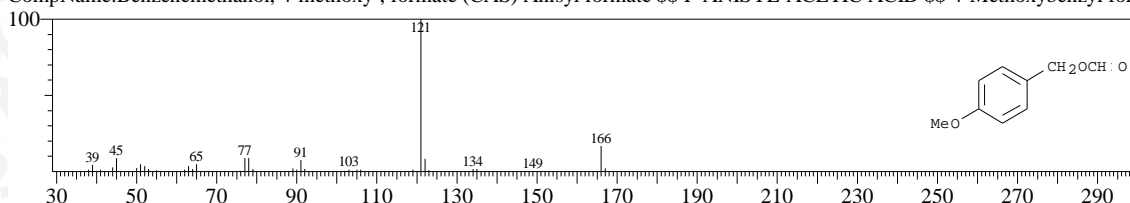
Line#:2 R.Time:16.517(Scan#:1503) MassPeaks:28
 RawMode:Single 16.517(1503) BasePeak:121.10(615091)
 BG Mode:Peak Start 16.292(1476)



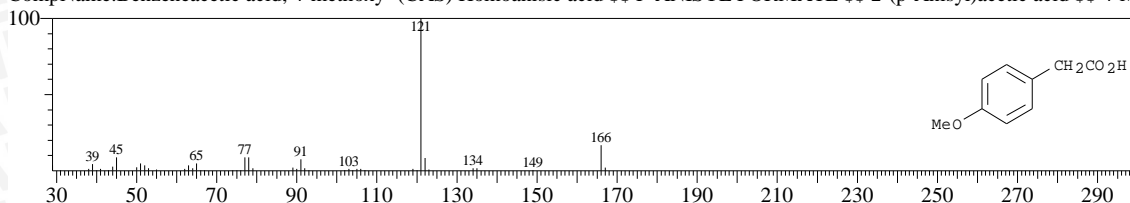
Hit#:1 Entry:56050 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C9 H10 O3 CAS:104-1-8 MolWeight:166 RetIndex:0
 CompName:Benzenecetic acid, 4-methoxy- (CAS) Homoanisic acid \$\$ P-ANISYL FORMATE \$\$ 2-(p-Anisyl)acetic acid \$\$ 4-Me



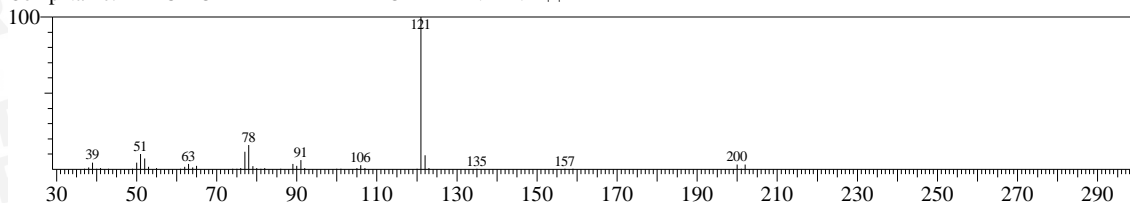
Hit#:2 Entry:56074 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C9 H10 O3 CAS:122-91-8 MolWeight:166 RetIndex:0
 CompName:Benzenemethanol, 4-methoxy-, formate (CAS) Anisyl formate \$\$ P-ANISYL-ACETIC ACID \$\$ 4-Methoxybenzyl form



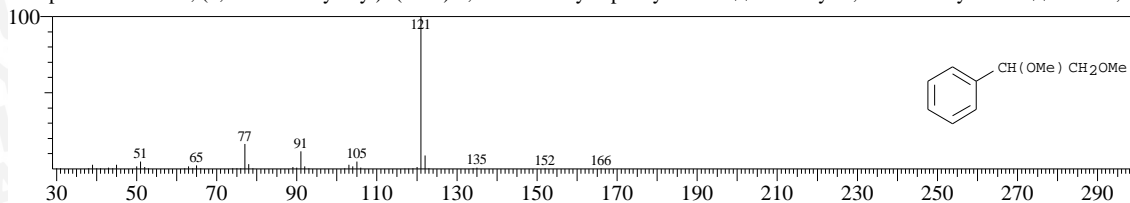
Hit#:3 Entry:56052 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C9 H10 O3 CAS:104-1-8 MolWeight:166 RetIndex:0
 CompName:Benzenecetic acid, 4-methoxy- (CAS) Homoanisic acid \$\$ P-ANISYL FORMATE \$\$ 2-(p-Anisyl)acetic acid \$\$ 4-Me



Hit#:4 Entry:94488 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C8 H9 BR O CAS:0-0-0 MolWeight:200 RetIndex:0
 CompName:1-BROMOMETHYL-4-METHOXY-BENZENE \$\$

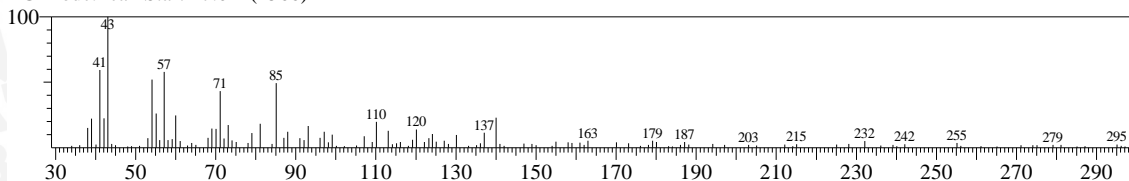


Hit#:5 Entry:56192 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C10 H14 O2 CAS:4013-37-0 MolWeight:166 RetIndex:0
 CompName:Benzene, (1,2-dimethoxyethyl)- (CAS) 1,2-Dimethoxy-1-phenylethane \$\$ 1-Phenyl-1,2-dimethoxyethane \$\$ Ethane, 1,

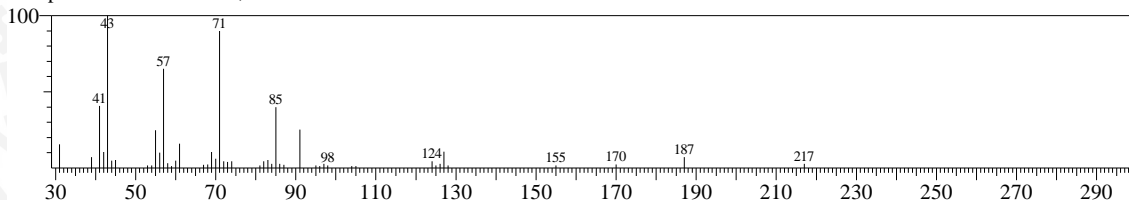


<< Target >>

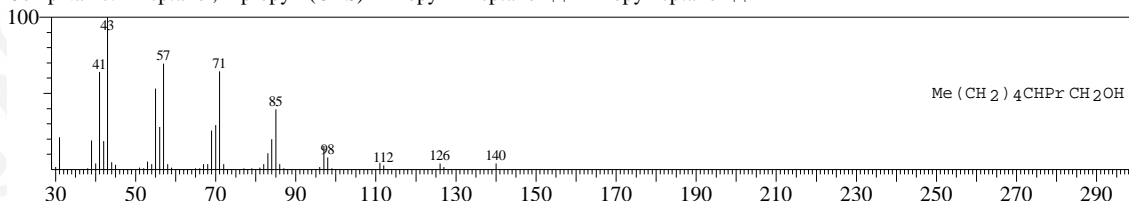
Line#3 R.Time:17.092(Scan#:1572) MassPeaks:124
 RawMode:Single 17.092(1572) BasePeak:43.10(2790)
 BG Mode:Peak Start 17.042(1566)



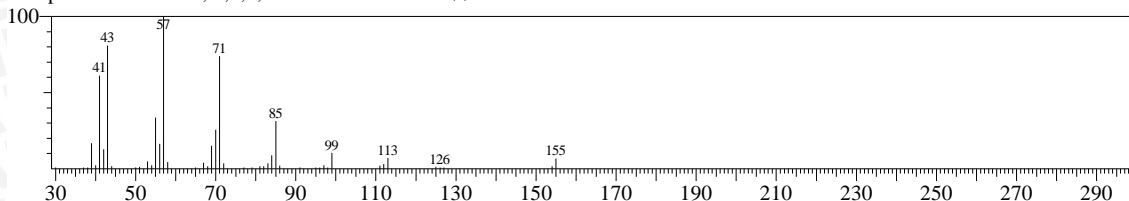
Hit#1 Entry:154076 Library:WILEY7.LIB
 SI:70 Formula:C13 H28 O4 CAS:0-0-0 MolWeight:248 RetIndex:0
 CompName:L-THREITOL, 2-O-NONYL- \$\$



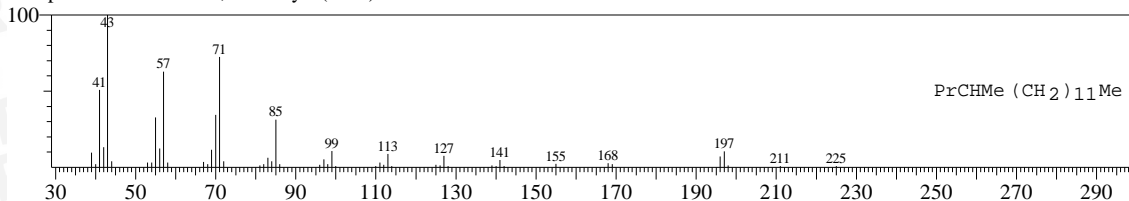
Hit#2 Entry:47429 Library:WILEY7.LIB
 SI:70 Formula:C10 H22 O CAS:10042-59-8 MolWeight:158 RetIndex:0
 CompName:1-Heptanol, 2-propyl- (CAS) 2-Propyl-1-heptanol \$\$ 2-Propylheptanol \$\$



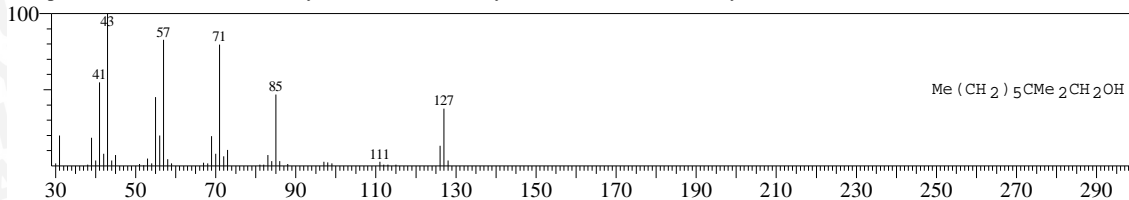
Hit#3 Entry:93180 Library:WILEY7.LIB
 SI:70 Formula:C14 H30 CAS:0-0-0 MolWeight:198 RetIndex:0
 CompName:DECANE, 2,3,5,8-TETRAMETHYL- \$\$



Hit#4 Entry:145948 Library:WILEY7.LIB
 SI:69 Formula:C17 H36 CAS:25117-26-4 MolWeight:240 RetIndex:0
 CompName:Hexadecane, 4-methyl- (CAS)

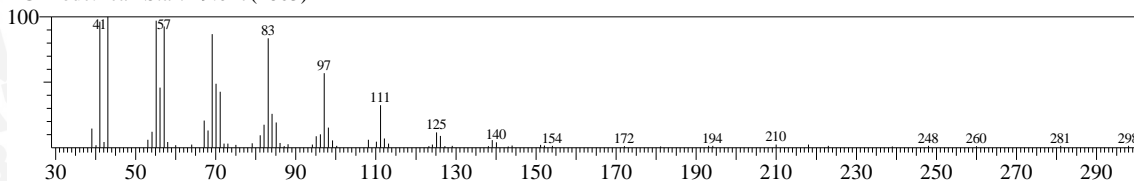


Hit#5 Entry:48034 Library:WILEY7.LIB
 SI:69 Formula:C10 H22 O CAS:2370-14-1 MolWeight:158 RetIndex:0
 CompName:1-Octanol, 2,2-dimethyl- (CAS) 2,2-Dimethyl-1-octanol \$\$ 2,2-Dimethyloctanol \$\$

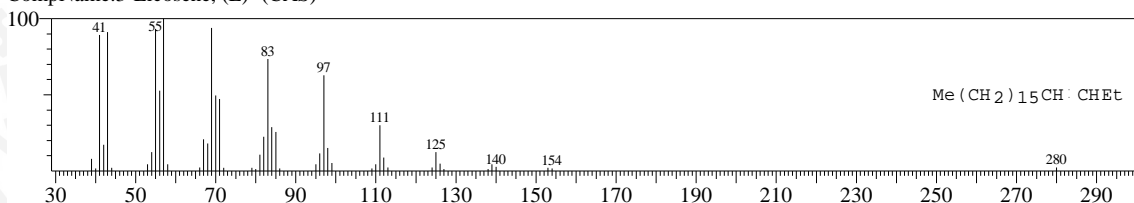


<< Target >>

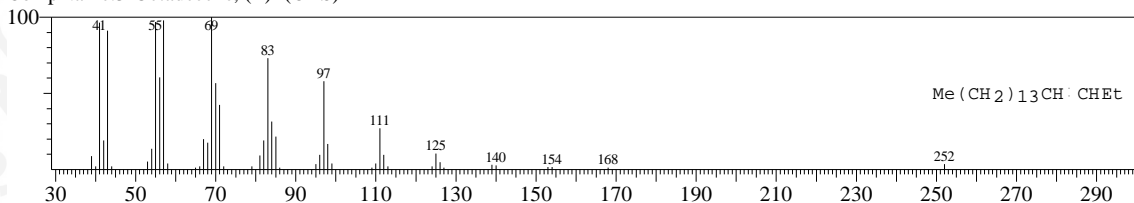
Line#:4 R.Time:19.067(Scan#:1809) MassPeaks:68
 RawMode:Single 19.067(1809) BasePeak:43.05(8773)
 BG Mode:Peak Start 19.017(1803)



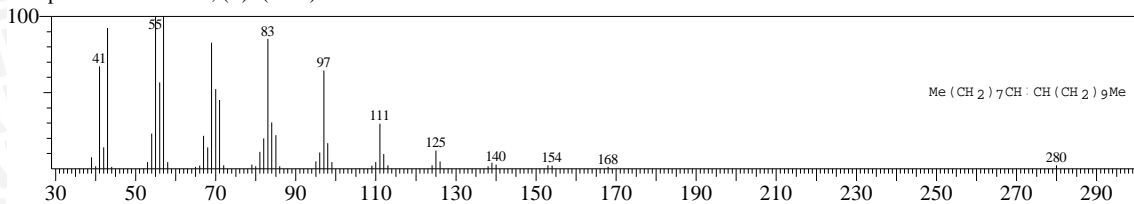
Hit#:1 Entry:190913 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C20 H40 CAS:74685-33-9 MolWeight:280 RetIndex:0
 CompName:3-Eicosene, (E)- (CAS)



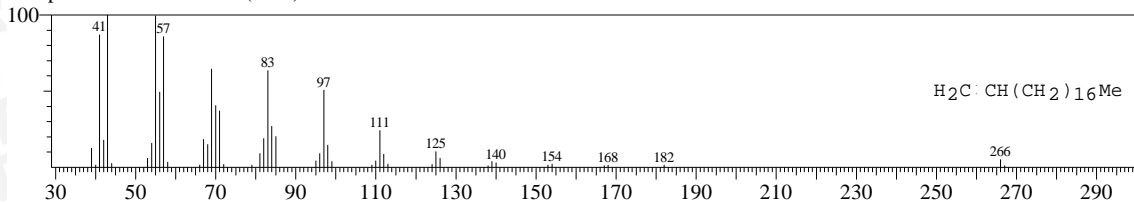
Hit#:2 Entry:159903 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C18 H36 CAS:7206-19-1 MolWeight:252 RetIndex:0
 CompName:3-Octadecene, (E)- (CAS)



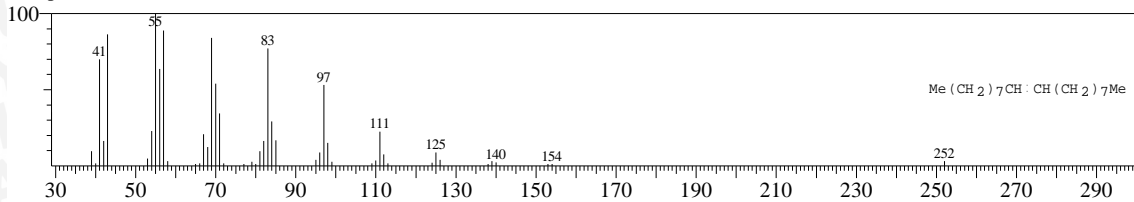
Hit#:3 Entry:190911 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C20 H40 CAS:74685-29-3 MolWeight:280 RetIndex:0
 CompName:9-Eicosene, (E)- (CAS)



Hit#:4 Entry:175937 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C19 H38 CAS:18435-45-5 MolWeight:266 RetIndex:0
 CompName:1-Nonadecene (CAS)

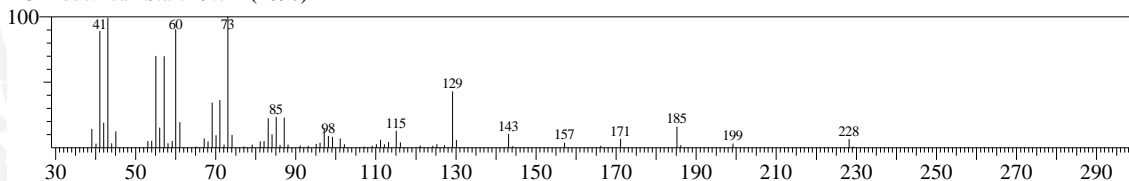


Hit#:5 Entry:159905 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C18 H36 CAS:7206-25-9 MolWeight:252 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecene, (E)- (CAS)

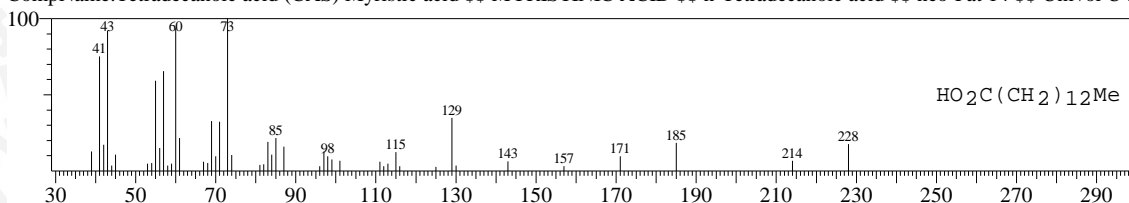


<< Target >>

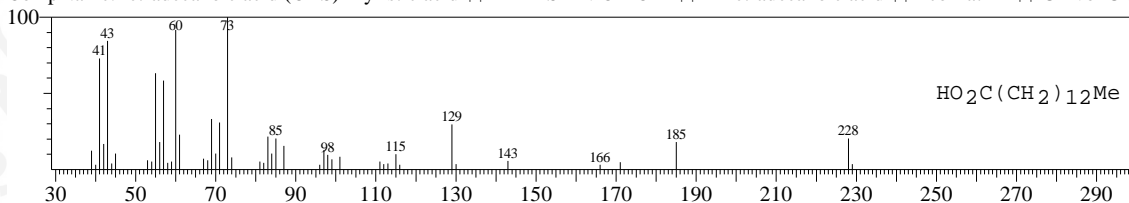
Line#:5 R.Time:19.883(Scan#:1907) MassPeaks:68
 RawMode:Single 19.883(1907) BasePeak:73.05(179282)
 BG Mode:Peak Start 19.742(1890)



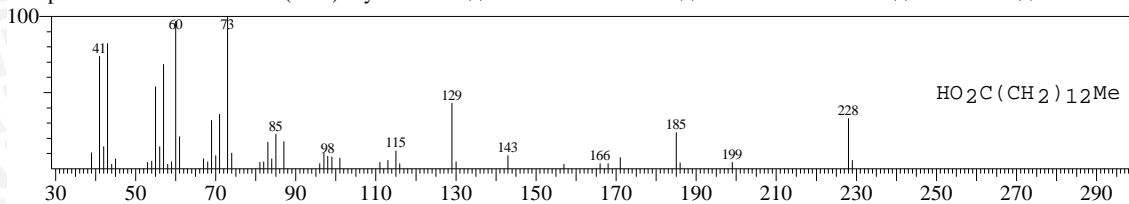
Hit#:1 Entry:131455 Library:WILEY7.LIB
 SI:96 Formula:C14 H28 O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid \$\$ MYRISTINIC ACID \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ neo-Fat 14 \$\$ Univol U 3



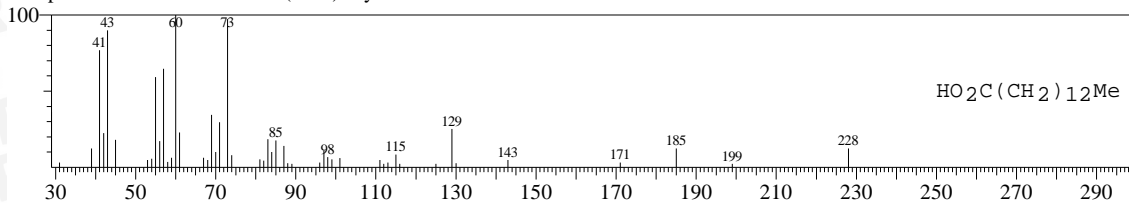
Hit#:2 Entry:131451 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C14 H28 O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid \$\$ MYRISTINIC ACID \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ neo-Fat 14 \$\$ Univol U 3



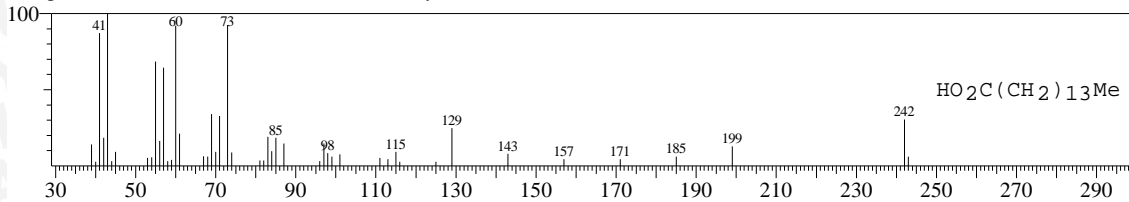
Hit#:3 Entry:131449 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C14 H28 O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid \$\$ MYRISTINIC ACID \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ neo-Fat 14 \$\$ Univol U 3



Hit#:4 Entry:131447 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C14 H28 O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanoic acid (CAS) Myristic acid \$\$ MYRISTINIC ACID \$\$ n-Tetradecanoic acid \$\$ neo-Fat 14 \$\$ Univol U 3

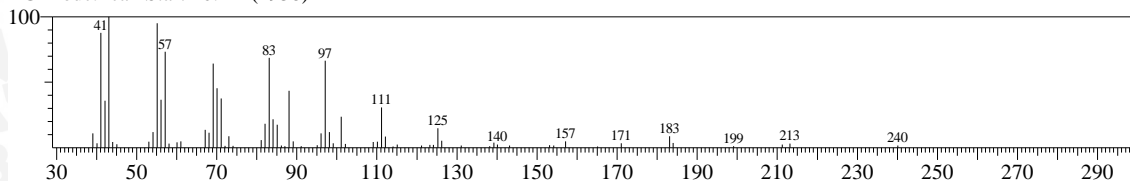


Hit#:5 Entry:148357 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C15 H30 O2 CAS:1002-84-2 MolWeight:242 RetIndex:0
 CompName:Pentadecanoic acid (CAS) Pentadecylic acid \$\$

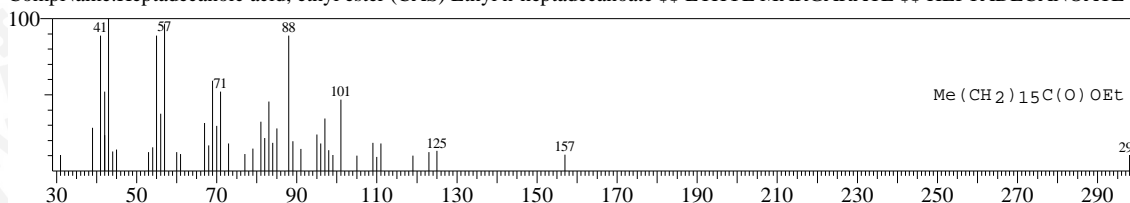


<< Target >>

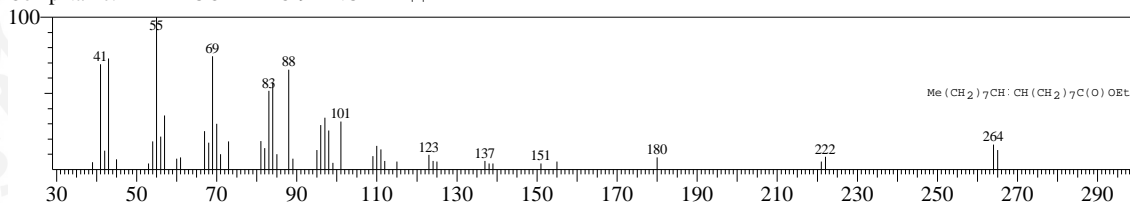
Line#:6 R.Time:20.267(Scan#:1953) MassPeaks:67
 RawMode:Single 20.267(1953) BasePeak:43.10(17863)
 BG Mode:Peak Start 20.142(1938)



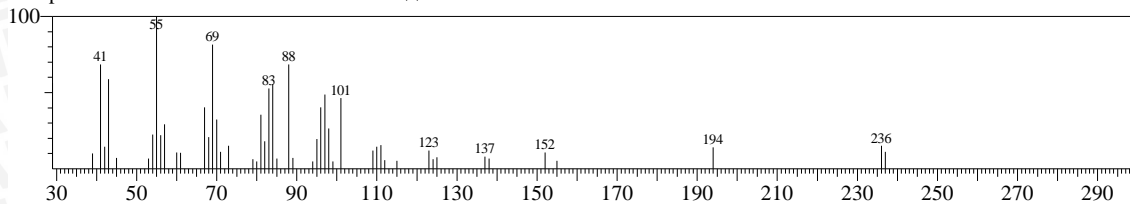
Hit#:1 Entry:209920 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C19 H38 O2 CAS:14010-23-2 MolWeight:298 RetIndex:0
 CompName:Heptadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl n-heptadecanoate \$\$ ETHYL MARGARATE \$\$ HEPTADECANOATE \$



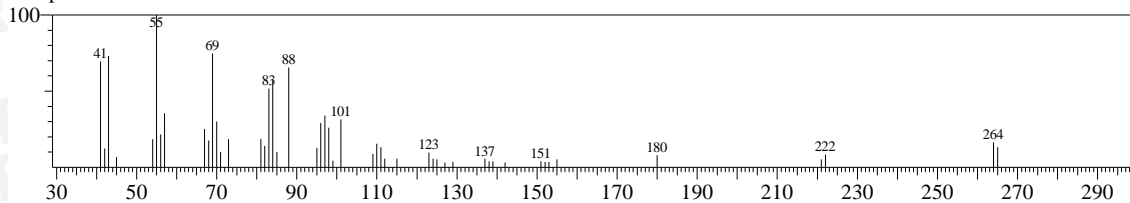
Hit#:2 Entry:221400 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C20 H38 O2 CAS:111-62-6 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:ETHYL OCTADEC-9-ENOATE \$\$



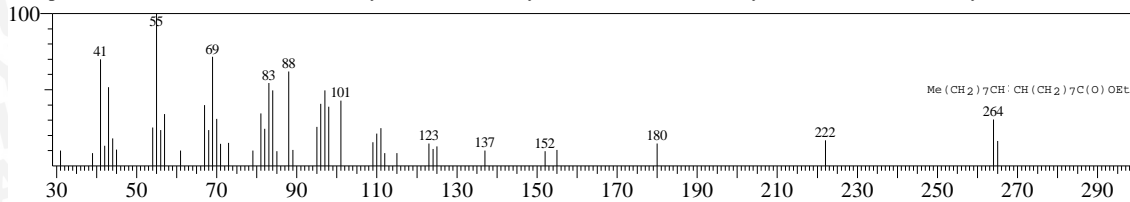
Hit#:3 Entry:192946 Library:WILEY7.LIB
 SI:81 Formula:C18 H34 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:282 RetIndex:0
 CompName:ETHYL 9-HEXADECENOATE \$\$



Hit#:4 Entry:221095 Library:WILEY7.LIB
 SI:81 Formula:C20 H38 O2 CAS:6512-99-8 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:ETHYL 9-OCTADECANOATE \$\$

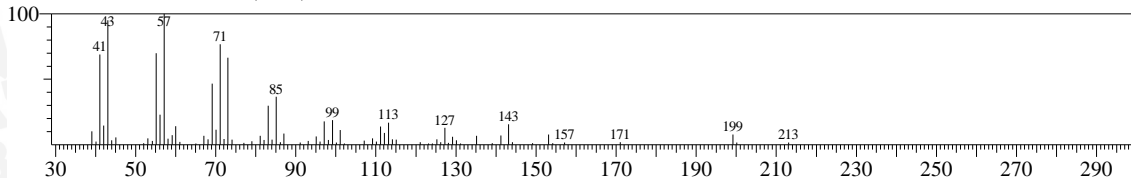


Hit#:5 Entry:221399 Library:WILEY7.LIB
 SI:79 Formula:C20 H38 O2 CAS:111-62-6 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, ethyl ester (CAS) Ethyl oleate \$\$ Oleic acid ethyl ester \$\$ Oleic acid, ethyl ester \$

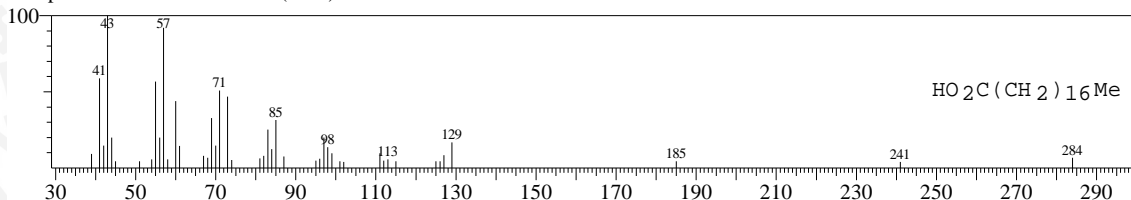


<< Target >>

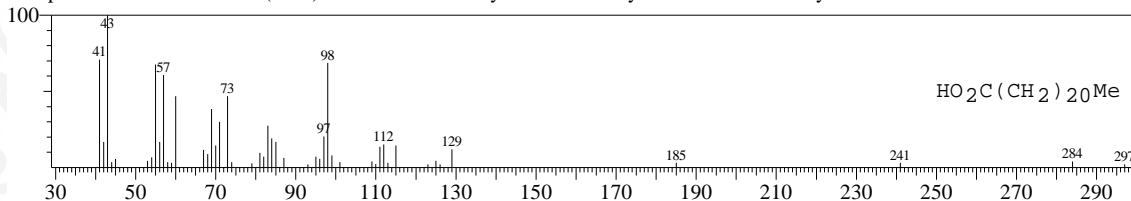
Line#:7 R.Time:20.558(Scan#:1988) MassPeaks:76
 RawMode:Single 20.558(1988) BasePeak:57.10(56812)
 BG Mode:Peak Start 20.492(1980)



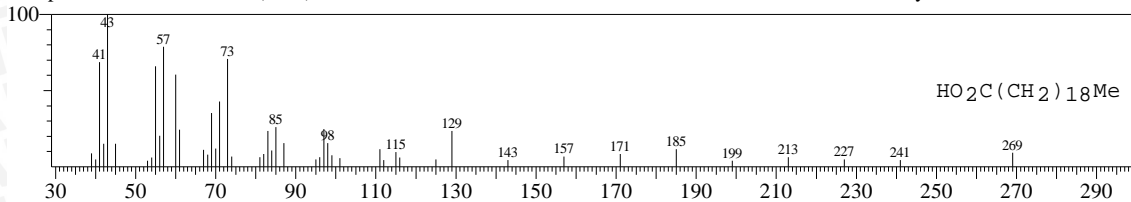
Hit#:1 Entry:195575 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C18 H36 O2 CAS:57-11-4 MolWeight:284 RetIndex:0
 CompName:Octadecanoic acid (CAS) Stearic acid \$\$ n-Octadecanoic acid \$\$ PD 185 \$\$ NAA 173 \$\$ Vanicol \$\$ Kam 3000 \$\$ K:



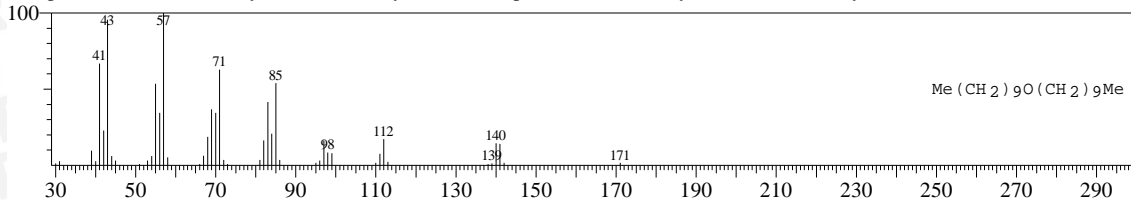
Hit#:2 Entry:247103 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C22 H44 O2 CAS:112-85-6 MolWeight:340 RetIndex:0
 CompName:Docosanoic acid (CAS) Behenic acid \$\$ Glycon B-70 \$\$ Hydrofol 2022-55 \$\$ Hydrofol Acid 560 \$\$ n-Docosanoic ac



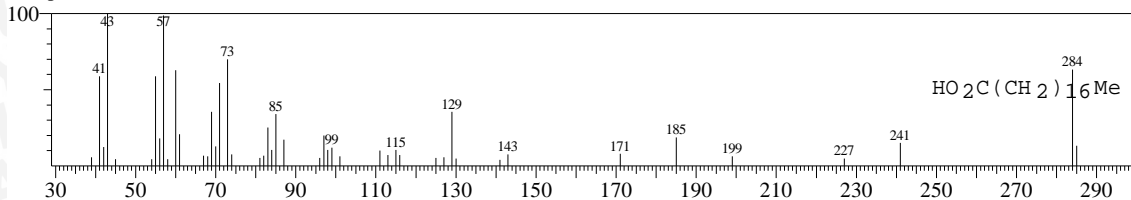
Hit#:3 Entry:223354 Library:WILEY7.LIB
 SI:82 Formula:C20 H40 O2 CAS:506-30-9 MolWeight:312 RetIndex:0
 CompName:Eicosanoic acid (CAS) Arachidic acid \$\$ Arachic acid \$\$ Icosanoic acid \$\$ Arachidic acid,synthetic \$\$ n-Eicosanoic a



Hit#:4 Entry:209956 Library:WILEY7.LIB
 SI:82 Formula:C20 H42 O CAS:2456-28-2 MolWeight:298 RetIndex:0
 CompName:Decane, 1,1'-oxybis- (CAS) Decyl ether \$\$ Capric ether \$\$ Didecyl ether \$\$ di-n-Decyl ether \$\$

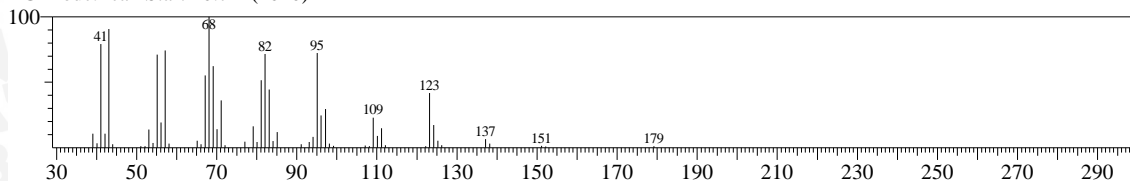


Hit#:5 Entry:195567 Library:WILEY7.LIB
 SI:82 Formula:C18 H36 O2 CAS:57-11-4 MolWeight:284 RetIndex:0
 CompName:Octadecanoic acid (CAS) Stearic acid \$\$ n-Octadecanoic acid \$\$ PD 185 \$\$ NAA 173 \$\$ Vanicol \$\$ Kam 3000 \$\$ K:

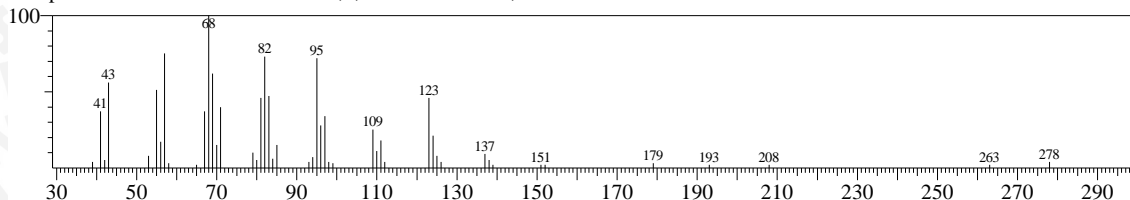


<< Target >>

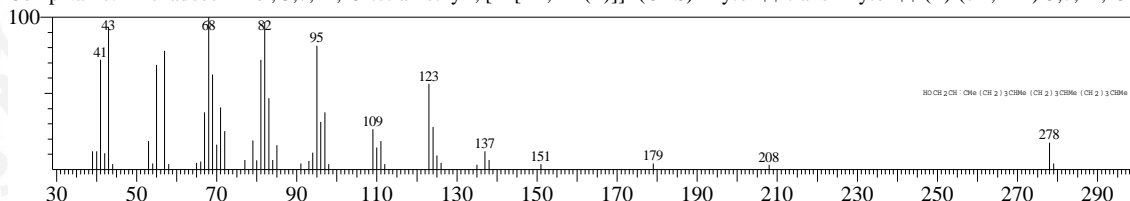
Line# 8 R.Time:20.842(Scan#:2022) MassPeaks:54
 RawMode:Single 20.842(2022) BasePeak:68.10(160883)
 BG Mode:Peak Start 20.742(2010)



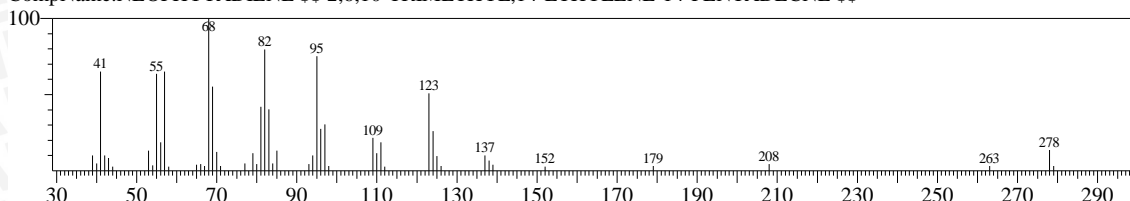
Hit#1 Entry:189040 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C20 H38 CAS:0-0-0 MolWeight:278 RetIndex:0
 CompName:NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE \$\$



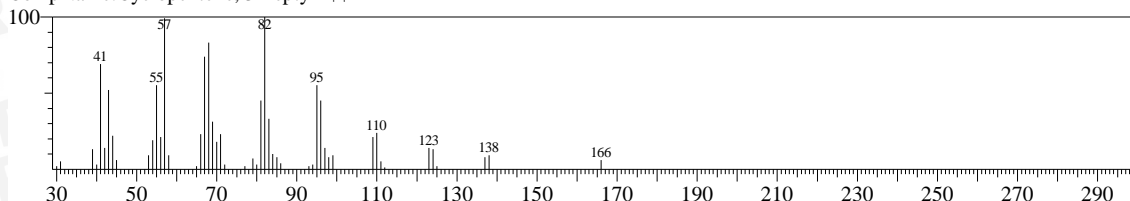
Hit#2 Entry:207900 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C20 H40 O CAS:150-86-7 MolWeight:296 RetIndex:0
 CompName:2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS) Phytol \$\$ trans-Phytol \$\$ (E)-(7R,11R)-3,7,11,15-t



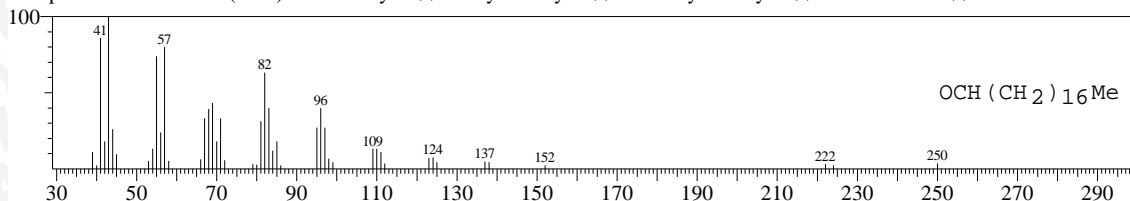
Hit#3 Entry:189041 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C20 H38 CAS:0-0-0 MolWeight:278 RetIndex:0
 CompName:NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE \$\$



Hit#4 Entry:55804 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C12 H22 CAS:0-0-0 MolWeight:166 RetIndex:0
 CompName:Cyclopentene, 3-heptyl- \$\$

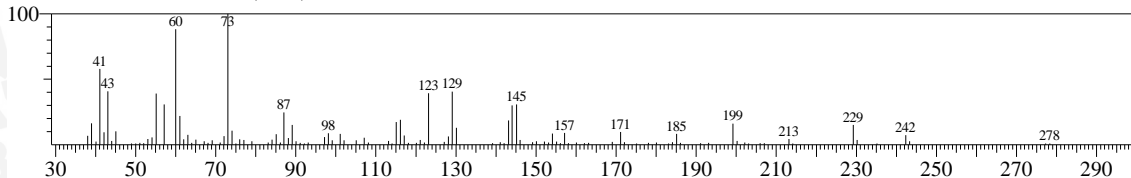


Hit#5 Entry:178148 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C18 H36 O CAS:638-66-4 MolWeight:268 RetIndex:0
 CompName:Octadecanal (CAS) Stearaldehyde \$\$ Stearyl aldehyde \$\$ Octadecyl aldehyde \$\$ n-Octadecanal \$\$

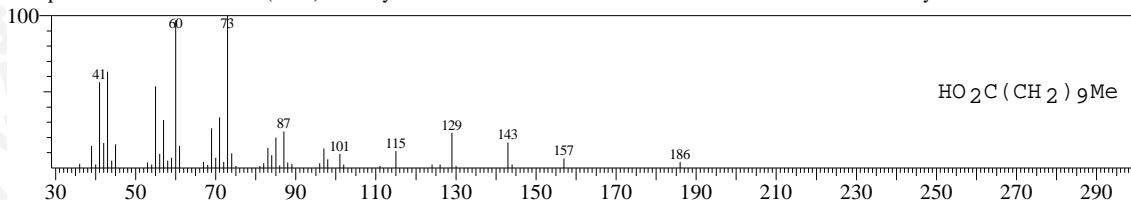


<< Target >>

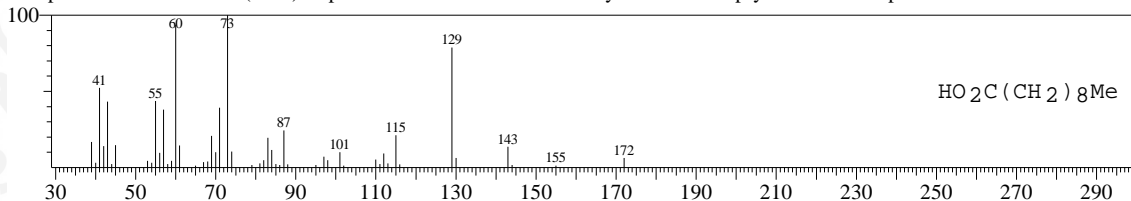
Line#:9 R.Time:21.042(Scan#:2046) MassPeaks:112
 RawMode:Single 21.042(2046) BasePeak:73.05(10610)
 BG Mode:Peak Start 20.917(2031)



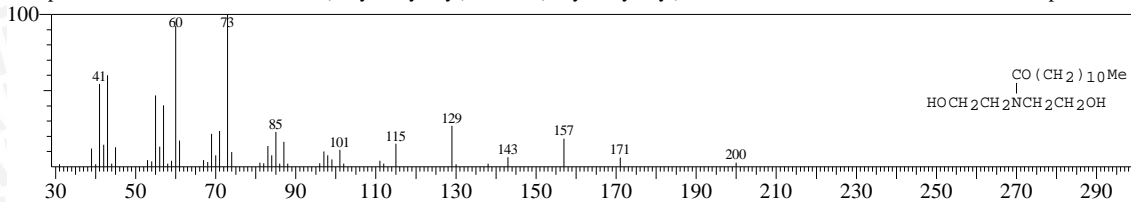
Hit#:1 Entry:79101 Library:WILEY7.LIB
 SI:73 Formula:C11 H22 O2 CAS:112-37-8 MolWeight:186 RetIndex:0
 CompName:Undecanoic acid (CAS) Undecylic acid \$ n-Undecanoic acid \$ Hendecanoic acid \$ n-Undecylic acid \$ n-Undecanoic



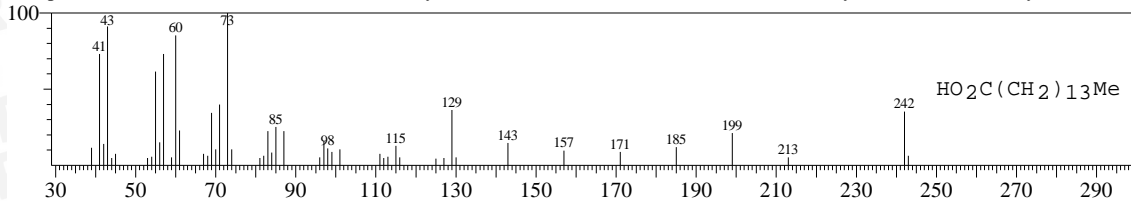
Hit#:2 Entry:63218 Library:WILEY7.LIB
 SI:72 Formula:C10 H20 O2 CAS:334-48-5 MolWeight:172 RetIndex:0
 CompName:Decanoic acid (CAS) Capric acid \$ Decoic acid \$ Decylic acid \$ Caprynic acid \$ Caprinic acid \$ n-Decoic acid \$



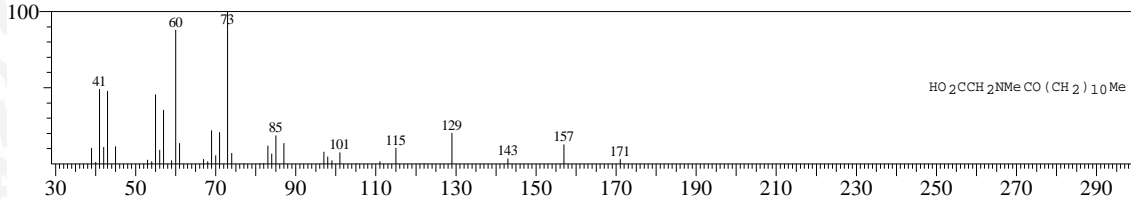
Hit#:3 Entry:198305 Library:WILEY7.LIB
 SI:71 Formula:C16 H33 N O3 CAS:120-40-1 MolWeight:287 RetIndex:0
 CompName:Dodecanamide, N,N-bis(2-hydroxyethyl)- \$ Bis(2-hydroxyethyl)lauramide \$ LDA \$ LDE \$ Clindrol Superamide I



Hit#:4 Entry:148360 Library:WILEY7.LIB
 SI:71 Formula:C15 H30 O2 CAS:1002-84-2 MolWeight:242 RetIndex:0
 CompName:Pentadecanoic acid (CAS) Pentadecylic acid \$ n-Pentadecanoic acid \$ n-Pentadecylic acid \$ Pentadecylic acid \$

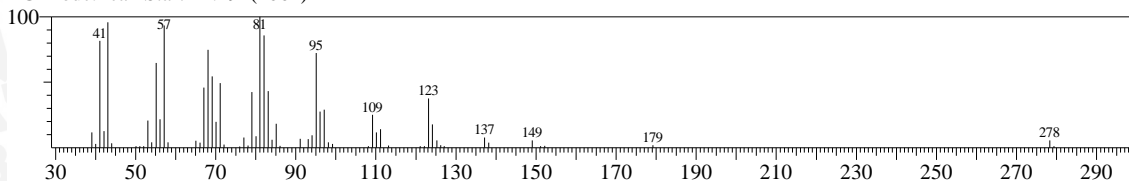


Hit#:5 Entry:180843 Library:WILEY7.LIB
 SI:71 Formula:C15 H29 N O3 CAS:97-78-9 MolWeight:271 RetIndex:0
 CompName:Glycine, N-methyl-N-(1-oxododecyl)- \$ Sarcosine, N-lauroyl- \$ Hamposyl I \$ Lauroyl sarcosine \$ Lauroylsarcosin

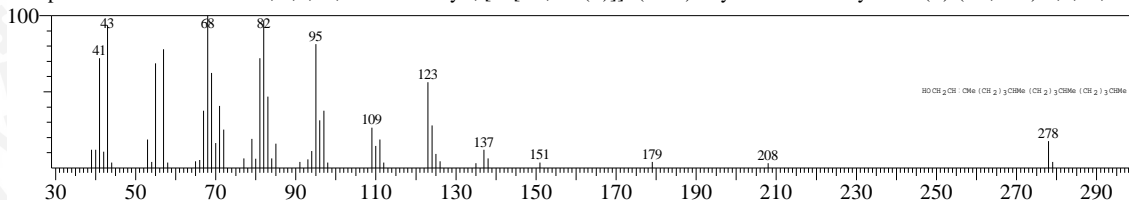


<< Target >>

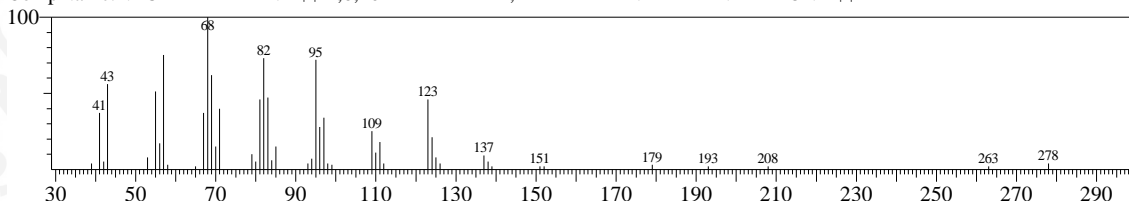
Line#:10 R.Time:21.342(Scan#:2082) MassPeaks:62
 RawMode:Single 21.342(2082) BasePeak:81.05(68794)
 BG Mode:Peak Start 21.192(2064)



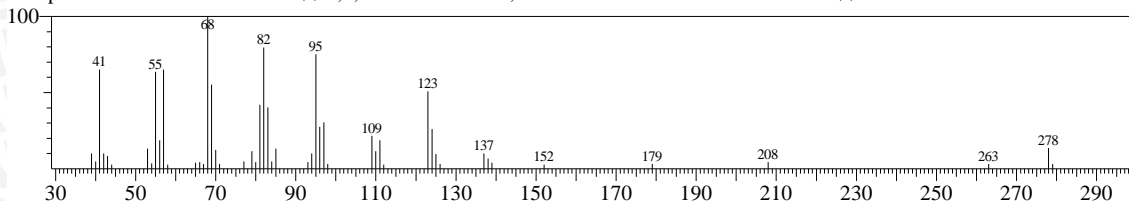
Hit#:1 Entry:207900 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C20 H40 O CAS:150-86-7 MolWeight:296 RetIndex:0
 CompName:2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS) Phytol \$\$ trans-Phytol \$\$ (E)-(7R,11R)-3,7,11,15-t



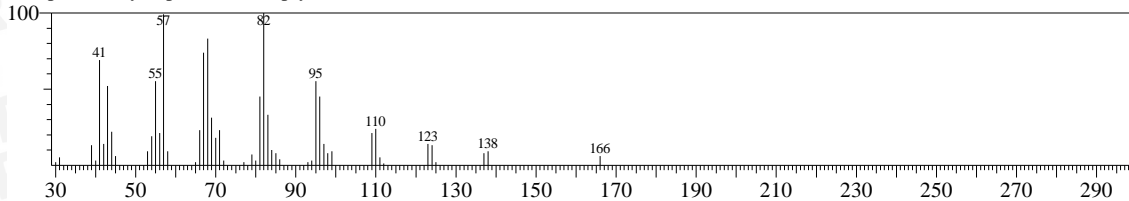
Hit#:2 Entry:189040 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C20 H38 CAS:0-0-0 MolWeight:278 RetIndex:0
 CompName:NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE \$\$



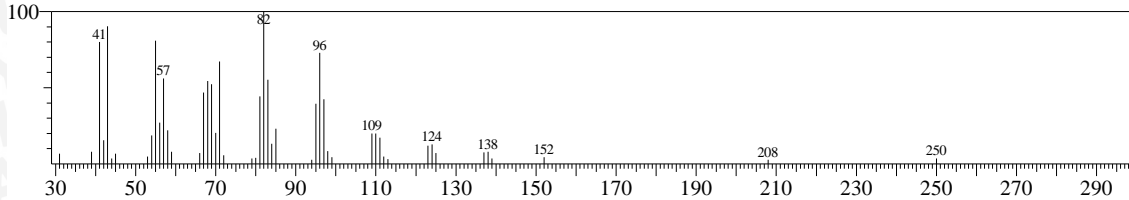
Hit#:3 Entry:189041 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C20 H38 CAS:0-0-0 MolWeight:278 RetIndex:0
 CompName:NEOPHYTADIENE \$\$ 2,6,10-TRIMETHYL,14-ETHYLENE-14-PENTADECNE \$\$



Hit#:4 Entry:55804 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C12 H22 CAS:0-0-0 MolWeight:166 RetIndex:0
 CompName:Cyclopentene, 3-heptyl- \$\$

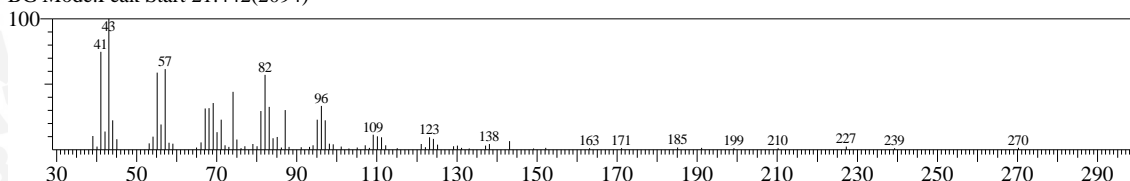


Hit#:5 Entry:177863 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C18 H36 O CAS:7390-81-0 MolWeight:268 RetIndex:0
 CompName:Oxirane, hexadecyl- \$\$ 1,2-Epoxyoctadecane \$\$ OCTADECAN, 1,2-EPOXI- \$\$

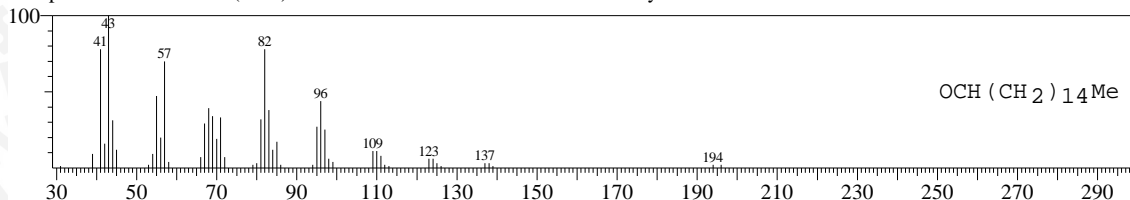


<< Target >>

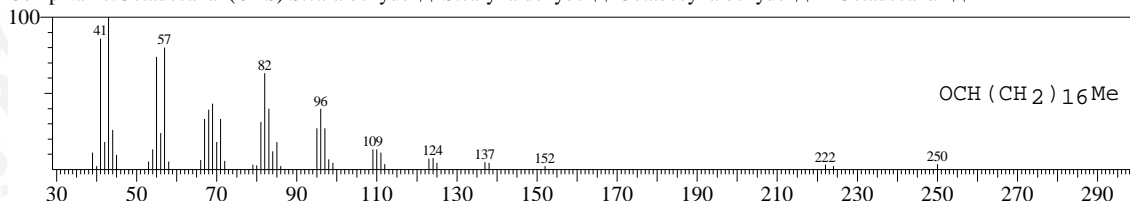
Line#:11 R.Time:21.767(Scan#:2133) MassPeaks:78
 RawMode:Single 21.767(2133) BasePeak:43.10(48173)
 BG Mode:Peak Start 21.442(2094)



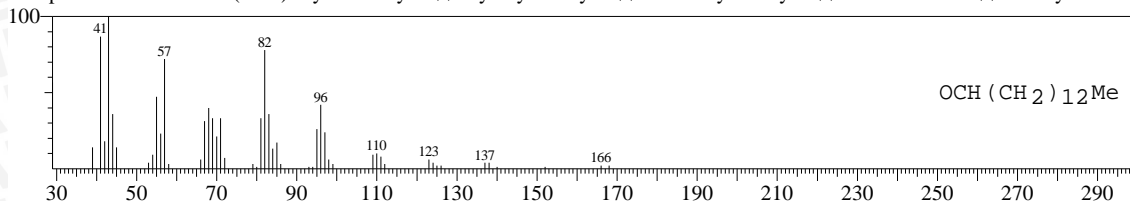
Hit#:1 Entry:146215 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C16 H32 O CAS:629-80-1 MolWeight:240 RetIndex:0
 CompName:Hexadecanal (CAS) PALMITIC ALDEHYDE \$\$ Palmitaldehyde \$\$



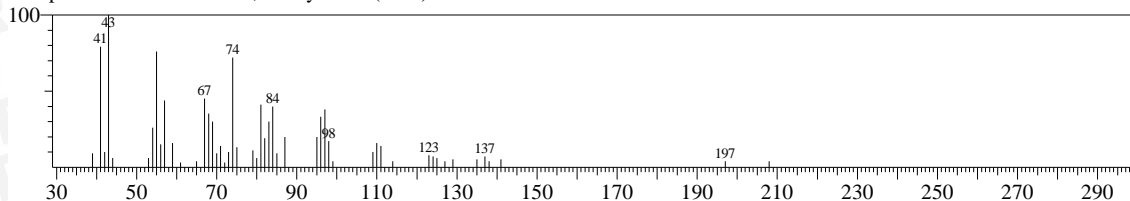
Hit#:2 Entry:178148 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C18 H36 O CAS:638-66-4 MolWeight:268 RetIndex:0
 CompName:Octadecanal (CAS) Stearaldehyde \$\$ Stearyl aldehyde \$\$ Octadecyl aldehyde \$\$ n-Octadecanal \$\$



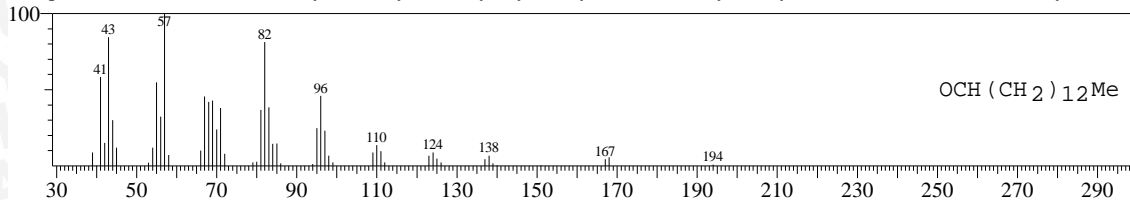
Hit#:3 Entry:111363 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C14 H28 O CAS:124-25-4 MolWeight:212 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanal (CAS) Myristaldehyde \$\$ Myristylaldehyde \$\$ Tetradecylaldehyde \$\$ n-Tetradecanal \$\$ Aldehyde C-14 :



Hit#:4 Entry:234093 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C21 H40 O2 CAS:27070-40-2 MolWeight:324 RetIndex:0
 CompName:Eicosenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL EICOSENOATE \$\$

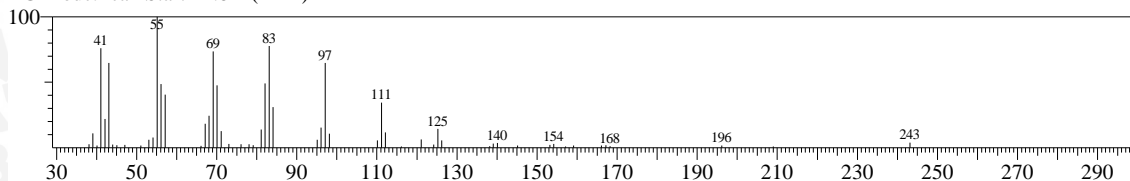


Hit#:5 Entry:111364 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C14 H28 O CAS:124-25-4 MolWeight:212 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanal (CAS) Myristaldehyde \$\$ Myristylaldehyde \$\$ Tetradecylaldehyde \$\$ n-Tetradecanal \$\$ Aldehyde C-14 :

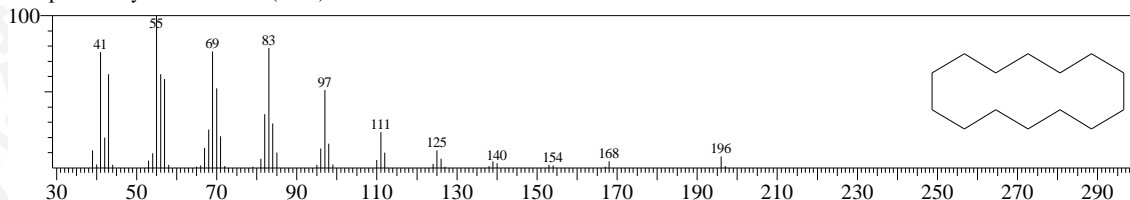


<< Target >>

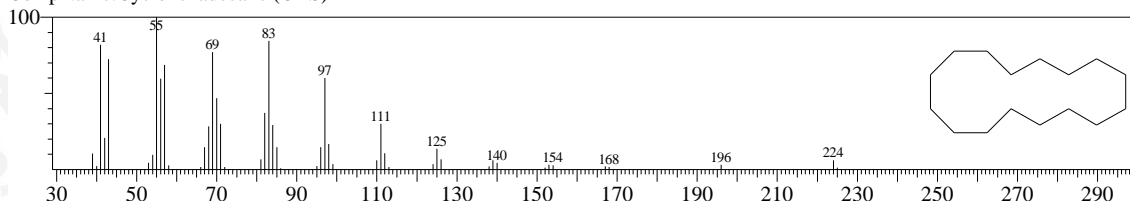
Line#:12 R.Time:21.917(Scan#:2151) MassPeaks:55
 RawMode:Single 21.917(2151) BasePeak:55.10(20537)
 BG Mode:Peak Start 21.842(2142)



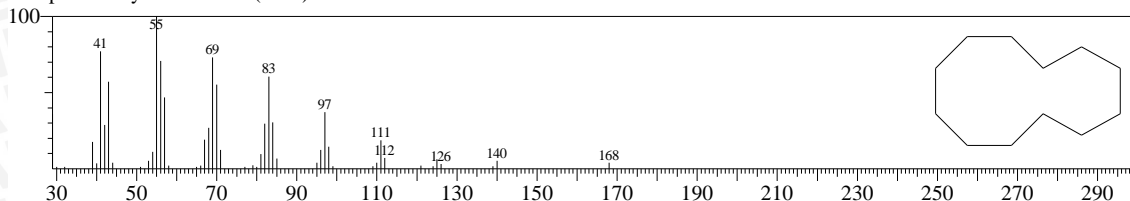
Hit#:1 Entry:91265 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C14 H28 CAS:295-17-0 MolWeight:196 RetIndex:0
 CompName:Cyclotetradecane (CAS)



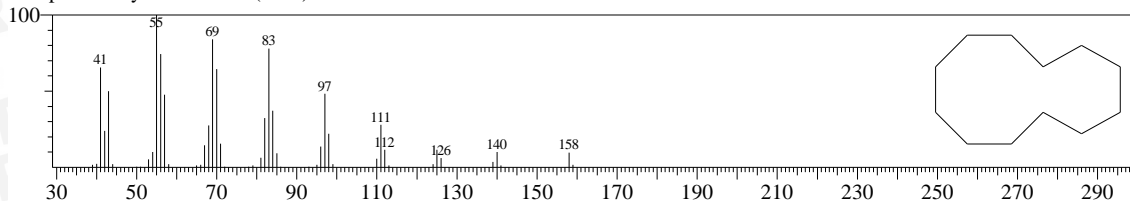
Hit#:2 Entry:126357 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C16 H32 CAS:295-65-8 MolWeight:224 RetIndex:0
 CompName:Cyclohexadecane (CAS)



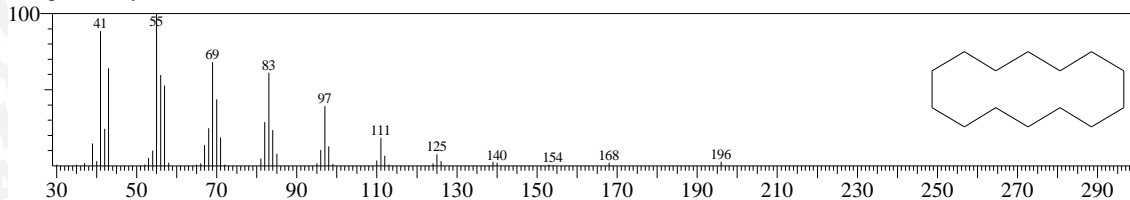
Hit#:3 Entry:58931 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C12 H24 CAS:294-62-2 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:Cyclododecane (CAS)



Hit#:4 Entry:58938 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C12 H24 CAS:294-62-2 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:Cyclododecane (CAS) CYCLODODECAN \$\$

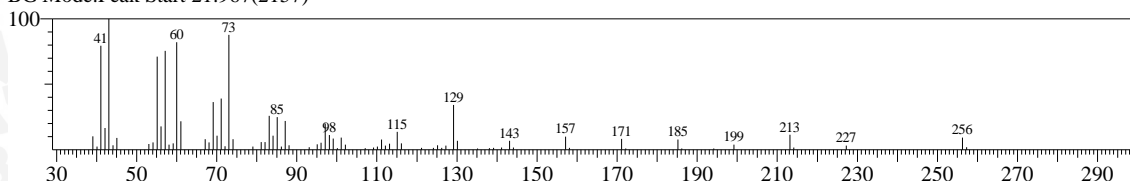


Hit#:5 Entry:91264 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C14 H28 CAS:295-17-0 MolWeight:196 RetIndex:0
 CompName:Cyclotetradecane (CAS)

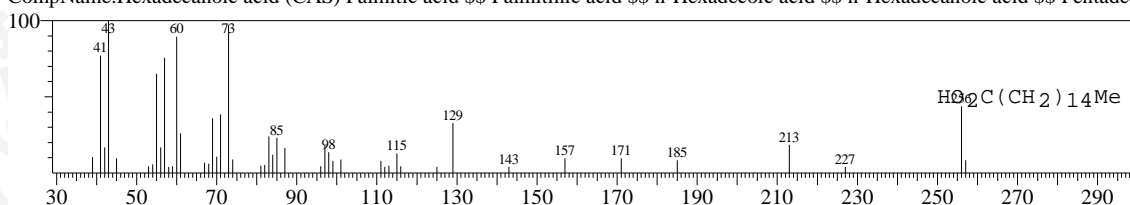


<< Target >>

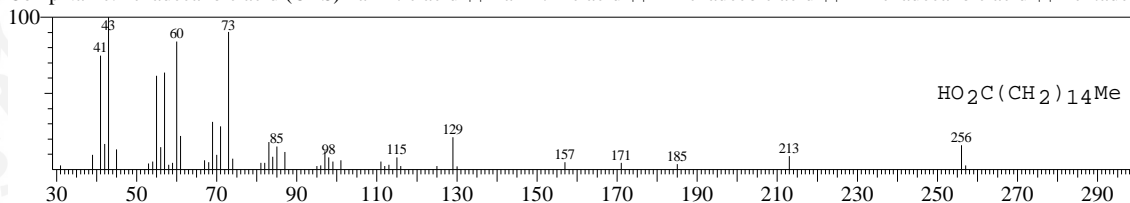
Line#:13 R.Time:22.233(Scan#:2189) MassPeaks:76
 RawMode:Single 22.233(2189) BasePeak:43.10(669998)
 BG Mode:Peak Start 21.967(2157)



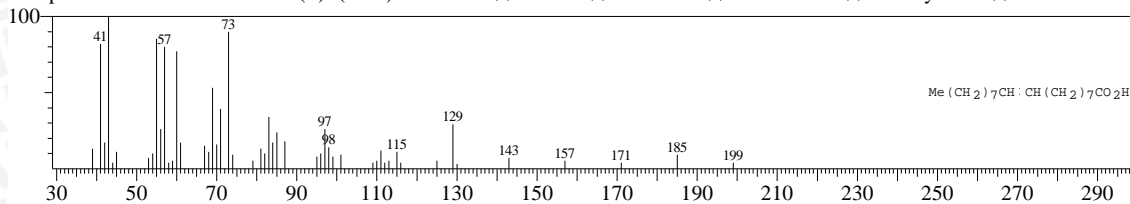
Hit#:1 Entry:164461 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
 CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid \$\$ Palmitinic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ n-Hexadecanoic acid \$\$ Pentadec



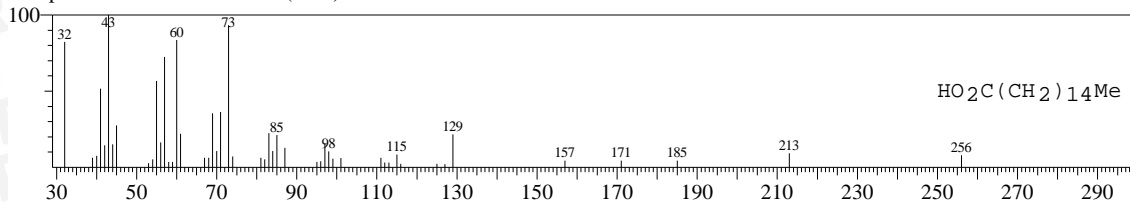
Hit#:2 Entry:164459 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
 CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid \$\$ Palmitinic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ n-Hexadecanoic acid \$\$ Pentadec



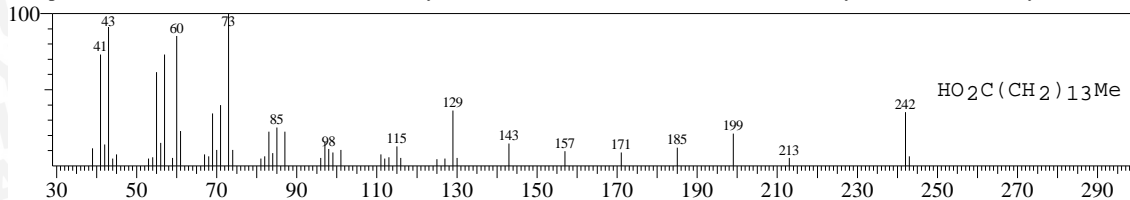
Hit#:3 Entry:193348 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C18 H34 O2 CAS:112-80-1 MolWeight:282 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) Oleic acid \$\$ Red oil \$\$ Oelsauere \$\$ Oleine 7503 \$\$ Pamolyn 100 \$\$ Emersol 211 \$



Hit#:4 Entry:164462 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C16 H32 O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0
 CompName:Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid \$\$ Palmitinic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ n-Hexadecanoic acid \$\$ Pentadec

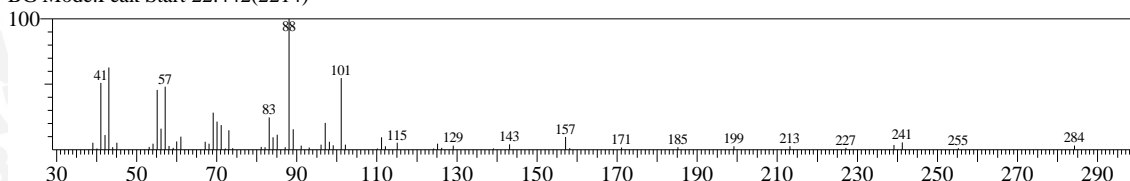


Hit#:5 Entry:148360 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C15 H30 O2 CAS:1002-84-2 MolWeight:242 RetIndex:0
 CompName:Pentadecanoic acid (CAS) Pentadecylic acid \$\$ n-Pentadecanoic acid \$\$ n-Pentadecylic acid \$\$ Pentadecylic acid \$\$

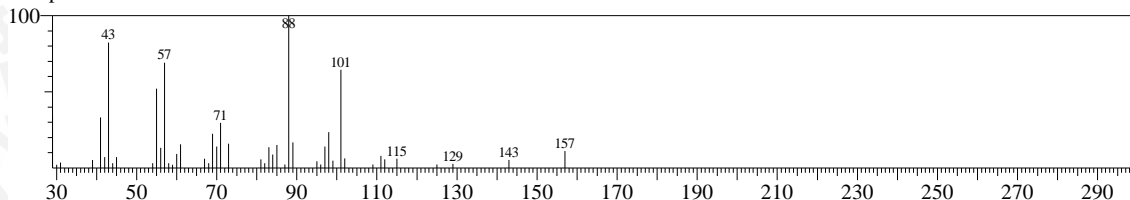


<< Target >>

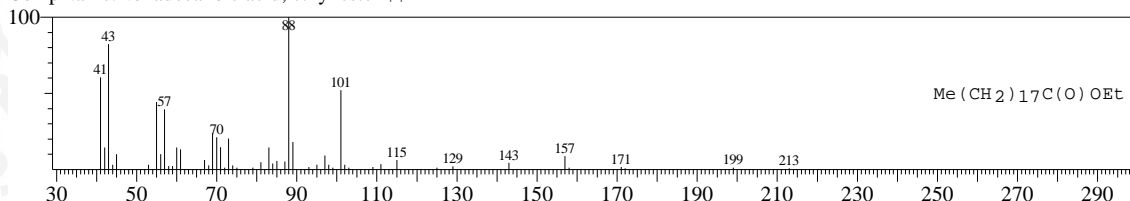
Line#:14 R.Time:22.492(Scan#:2220) MassPeaks:61
 RawMode:Single 22.492(2220) BasePeak:88.10(55447)
 BG Mode:Peak Start 22.442(2214)



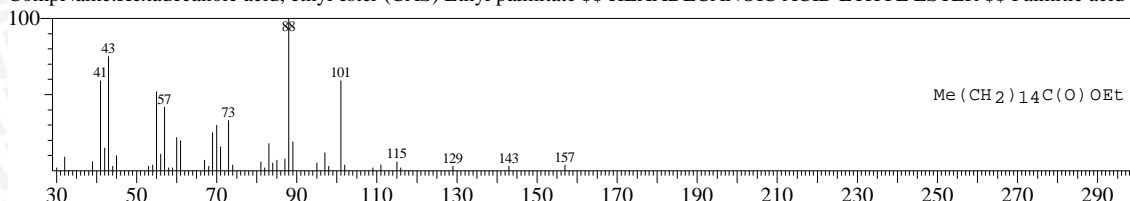
Hit#:1 Entry:266416 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C24 H48 O2 CAS:5908-87-2 MolWeight:368 RetIndex:0
 CompName:ETHYL ESTER OF DOCOSANOIC ACID \$\$ ETHYL ESTER OF BEHENIC ACID \$\$



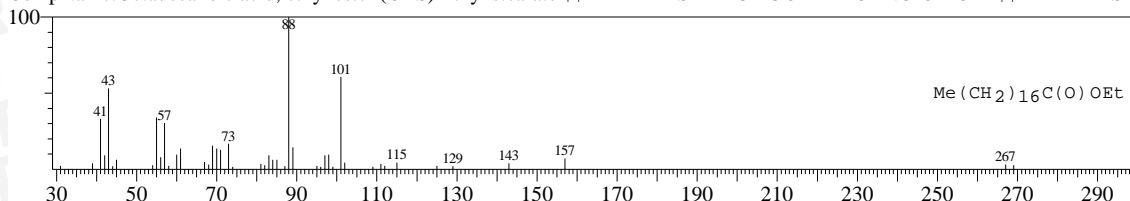
Hit#:2 Entry:235499 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C21 H42 O2 CAS:18281-4-4 MolWeight:326 RetIndex:0
 CompName:Nonadecanoic acid, ethyl ester \$\$



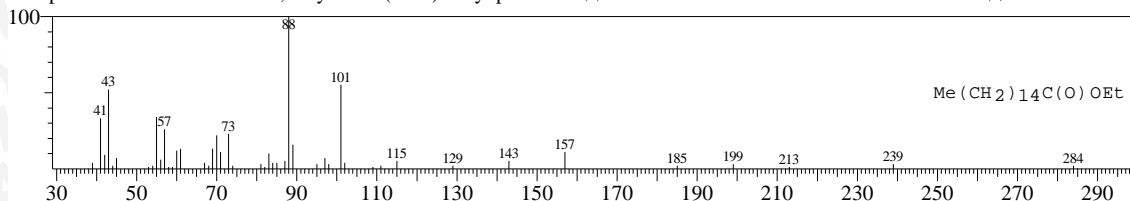
Hit#:3 Entry:195611 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C18 H36 O2 CAS:628-97-7 MolWeight:284 RetIndex:0
 CompName:Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl palmitate \$\$ HEXADECANOIC ACID ETHYL ESTER \$\$ Palmitic acid e



Hit#:4 Entry:223381 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C20 H40 O2 CAS:111-61-5 MolWeight:312 RetIndex:0
 CompName:Octadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl stearate \$\$ ETHYL ESTER OF OCTADECANOIC ACID \$\$ ETHYL ESTE

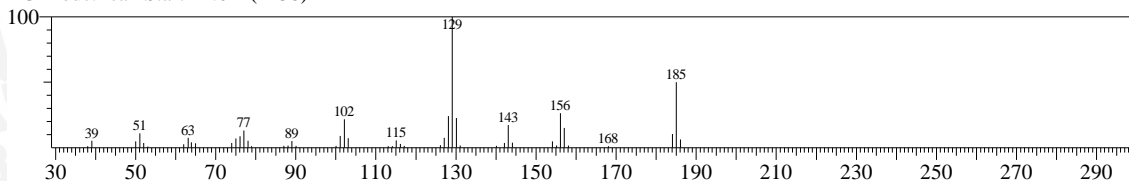


Hit#:5 Entry:195615 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C18 H36 O2 CAS:628-97-7 MolWeight:284 RetIndex:0
 CompName:Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl palmitate \$\$ HEXADECANOIC ACID ETHYL ESTER \$\$ Palmitic acid e

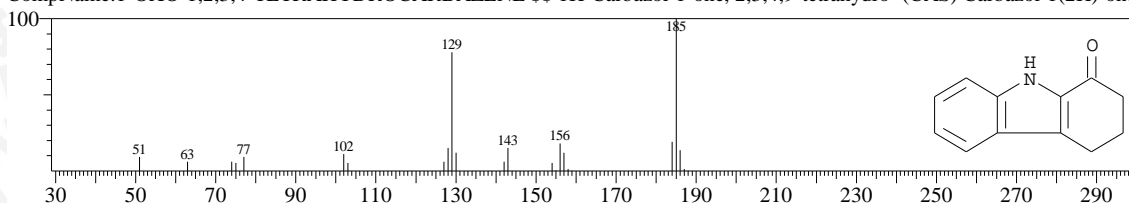


<< Target >>

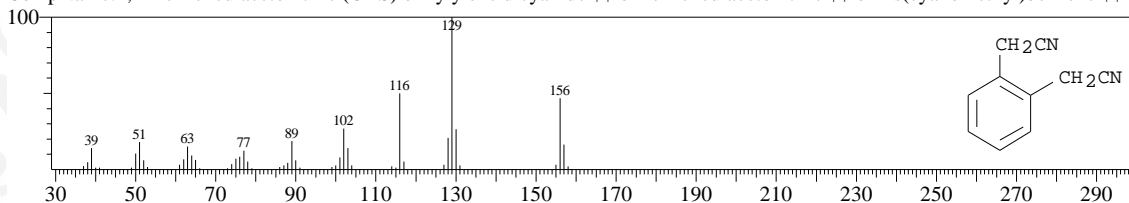
Line#:15 R.Time:22.758(Scan#:2252) MassPeaks:48
 RawMode:Single 22.758(2252) BasePeak:129.10(147354)
 BG Mode:Peak Start 22.642(2238)



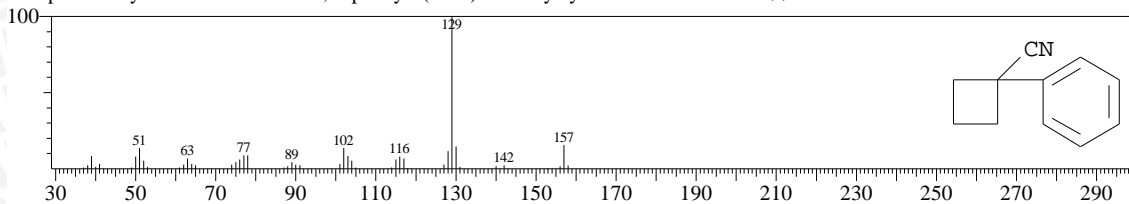
Hit#:1 Entry:77490 Library:WILEY7.LIB
 SI:80 Formula:C12 H11 N O CAS:3456-99-3 MolWeight:185 RetIndex:0
 CompName:1-OXO-1,2,3,4-TETRAHYDROCARBAZENE \$\$ 1H-Carbazol-1-one, 2,3,4,9-tetrahydro- (CAS) Carbazol-1(2H)-one,



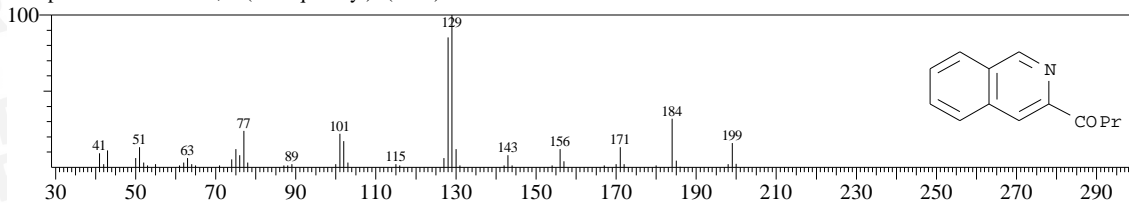
Hit#:2 Entry:45454 Library:WILEY7.LIB
 SI:79 Formula:C10 H8 N2 CAS:613-73-0 MolWeight:156 RetIndex:0
 CompName:1,2-Benzenediacetonitrile (CAS) o-Xylylene dicyanide \$\$ o-Benzenediacetonitrile \$\$ o-Bis(cyanomethyl)benzene \$\$ 1.



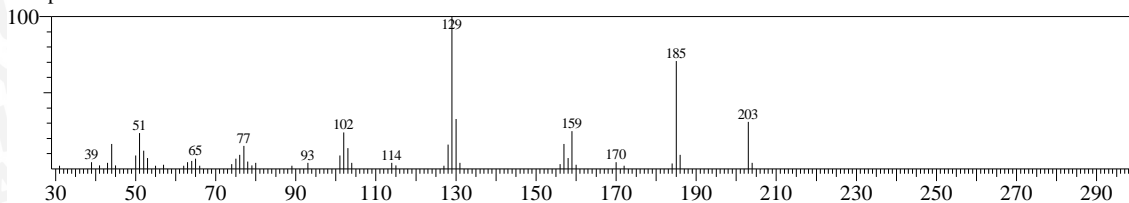
Hit#:3 Entry:46613 Library:WILEY7.LIB
 SI:77 Formula:C11 H11 N CAS:14377-68-5 MolWeight:157 RetIndex:0
 CompName:Cyclobutanecarbonitrile, 1-phenyl- (CAS) 1-Phenylcyclobutanecarbonitrile \$\$



Hit#:4 Entry:94175 Library:WILEY7.LIB
 SI:77 Formula:C13 H13 N O CAS:7661-41-8 MolWeight:199 RetIndex:0
 CompName:1-Butanone, 1-(3-isoquinolyl)- (CAS)

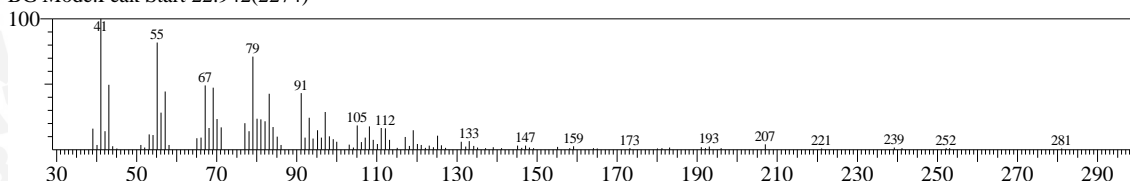


Hit#:5 Entry:98507 Library:WILEY7.LIB
 SI:76 Formula:C11 H9 N O3 CAS:0-0-0 MolWeight:203 RetIndex:0
 CompName:

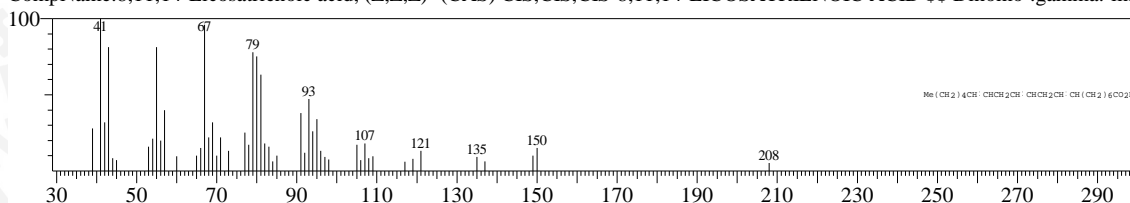


<< Target >>

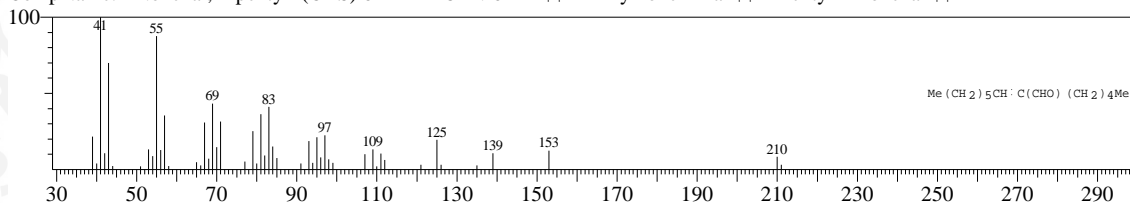
Line#:16 R.Time:23.342(Scan#:2322) MassPeaks:98
 RawMode:Single 23.342(2322) BasePeak:41.10(19516)
 BG Mode:Peak Start 22.942(2274)



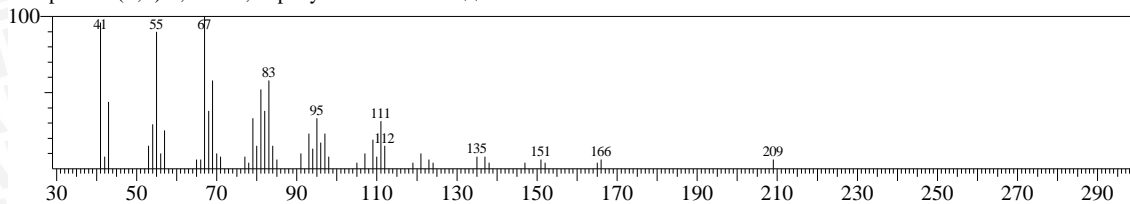
Hit#:1 Entry:217297 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C20 H34 O2 CAS:1783-84-2 MolWeight:306 RetIndex:0
 CompName:8,11,14-Eicosatrienoic acid, (Z,Z,Z)- (CAS) CIS,CIS,CIS-8,11,14-EICOSATRIENOIC ACID \$\$ Dihomo- gamma- lin-



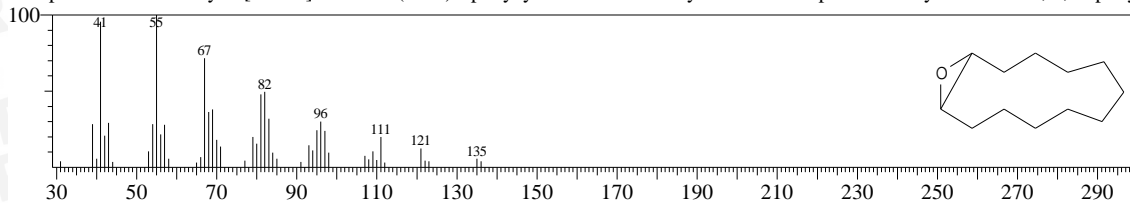
Hit#:2 Entry:108910 Library:WILEY7.LIB
 SI:82 Formula:C14 H26 O CAS:3021-89-4 MolWeight:210 RetIndex:0
 CompName:2-Nonenal, 2-pentyl- (CAS) 6-TRIDECEN-6-AL \$\$ 2-Amylnonen-2-al \$\$ 2-Pentyl-2-nonenal \$\$



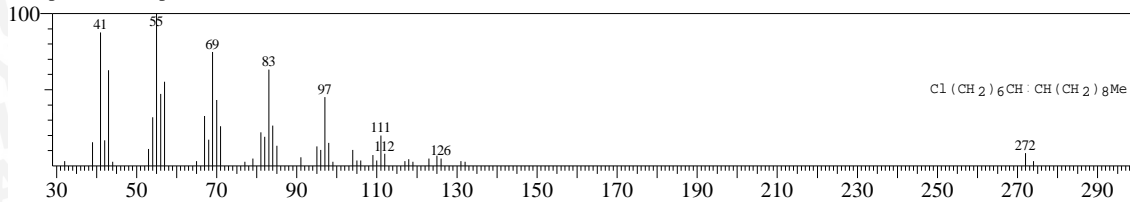
Hit#:3 Entry:188729 Library:WILEY7.LIB
 SI:81 Formula:C19 H34 O CAS:0-0-0 MolWeight:278 RetIndex:0
 CompName:(Z,Z)-3,9-cis-6,7-epoxy-nonadecadiene \$\$



Hit#:4 Entry:74531 Library:WILEY7.LIB
 SI:81 Formula:C12 H22 O CAS:286-99-7 MolWeight:182 RetIndex:0
 CompName:13-Oxabicyclo[10.1.0]tridecane (CAS) Epoxycyclododecane \$\$ Cyclododecene epoxide \$\$ Cyclododecane, 1,2-epoxy-

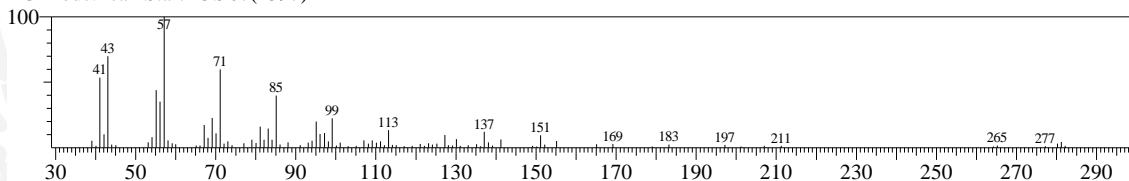


Hit#:5 Entry:182565 Library:WILEY7.LIB
 SI:81 Formula:C17 H33 Cl CAS:5654-78-0 MolWeight:272 RetIndex:0
 CompName:7-Heptadecene, 1-chloro- (CAS) 1 CHLORO-HEPTADEC-6-ENE \$\$

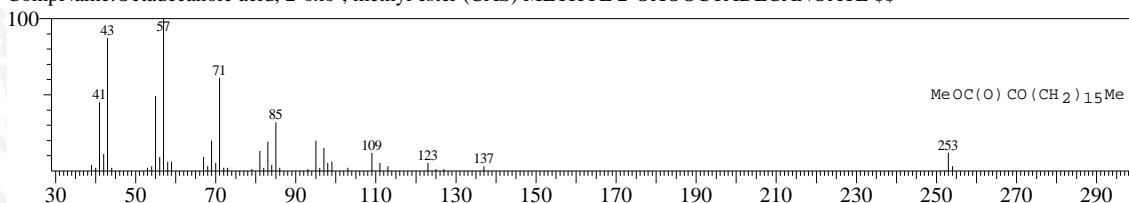


<< Target >>

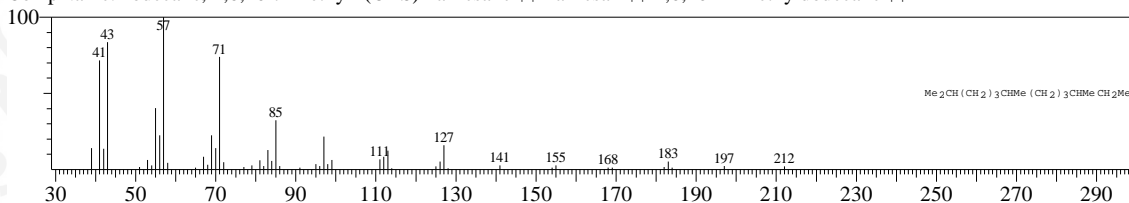
Line#:17 R.Time:24.300(Scan#:2437) MassPeaks:94
 RawMode:Single 24.300(2437) BasePeak:57.10(56294)
 BG Mode:Peak Start 23.967(2397)



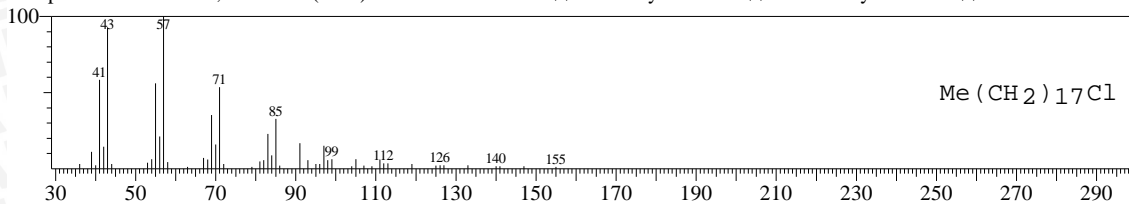
Hit#:1 Entry:223311 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C19 H36 O3 CAS:2380-18-9 MolWeight:312 RetIndex:0
 CompName:Octadecanoic acid, 2-oxo-, methyl ester (CAS) METHYL 2-OXOOCTADECANOATE \$\$



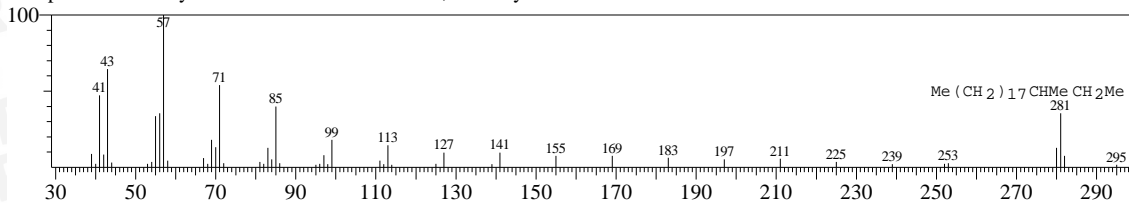
Hit#:2 Entry:111415 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C15 H32 CAS:3891-98-3 MolWeight:212 RetIndex:0
 CompName:Dodecane, 2,6,10-trimethyl- (CAS) Farnesane \$\$ Farnesan \$\$ 2,6,10-Trimethyldodecane \$\$



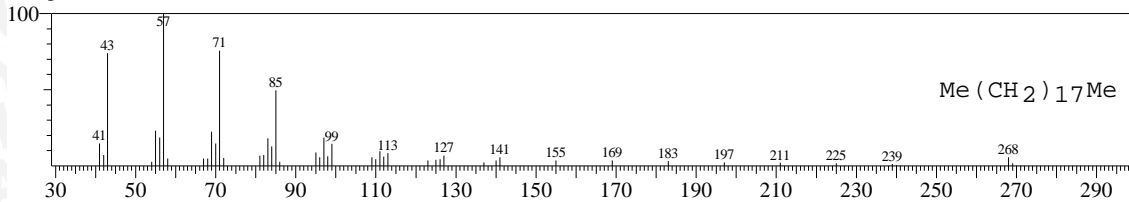
Hit#:3 Entry:199672 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C18 H37 Cl CAS:3386-33-2 MolWeight:288 RetIndex:0
 CompName:Octadecane, 1-chloro- (CAS) 1-Chlorooctadecane \$\$ Octadecyl chloride \$\$ n-Octadecyl chloride \$\$ Chlorooctadecane



Hit#:4 Entry:221435 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C22 H46 CAS:6418-47-9 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:3-Methylheneicosane \$\$ Heneicosane, 3-methyl- \$\$

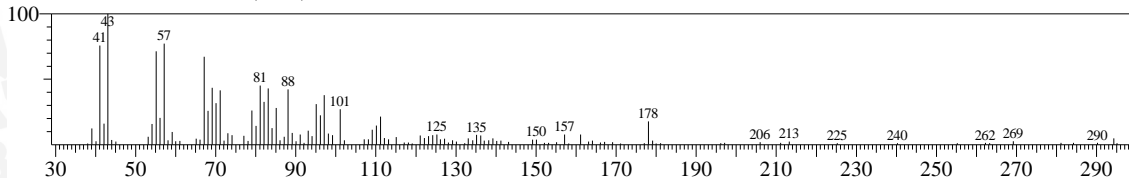


Hit#:5 Entry:178179 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C19 H40 CAS:629-92-5 MolWeight:268 RetIndex:0
 CompName:Nonadecane (CAS) n-Nonadecane \$\$

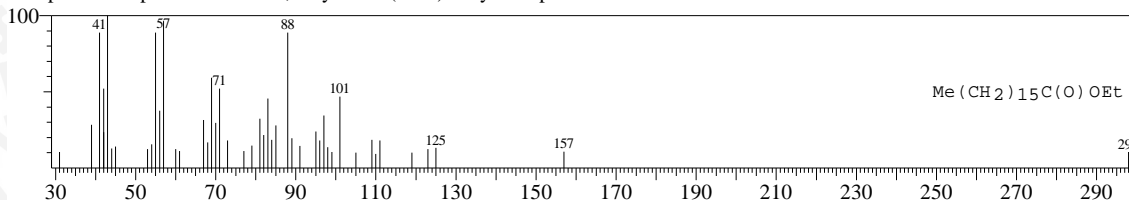


<< Target >>

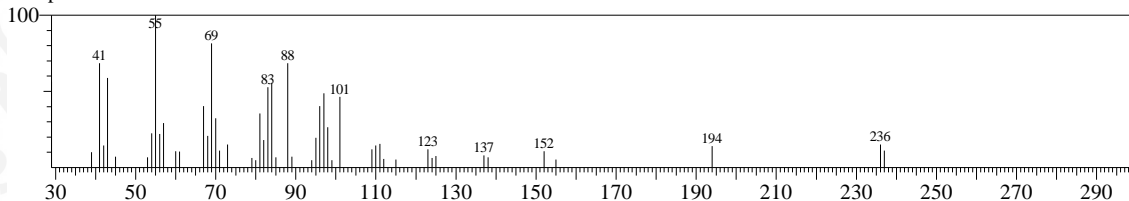
Line#:18 R.Time:24.517(Scan#:2463) MassPeaks:119
 RawMode:Single 24.517(2463) BasePeak:43.10(18589)
 BG Mode:Peak Start 24.442(2454)



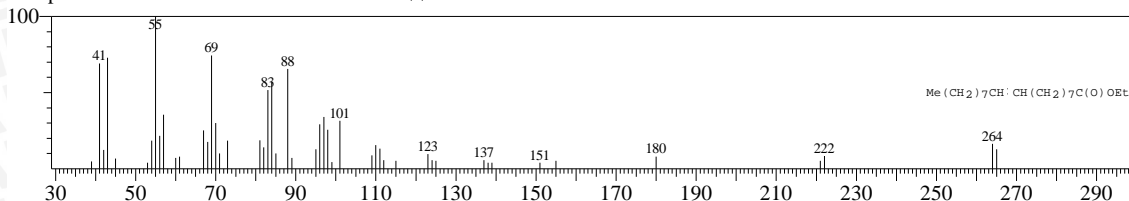
Hit#:1 Entry:209920 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C19 H38 O2 CAS:14010-23-2 MolWeight:298 RetIndex:0
 CompName:Heptadecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl n-heptadecanoate \$ \$ ETHYL MARGARATE \$ \$ HEPTADECANOATE \$ \$



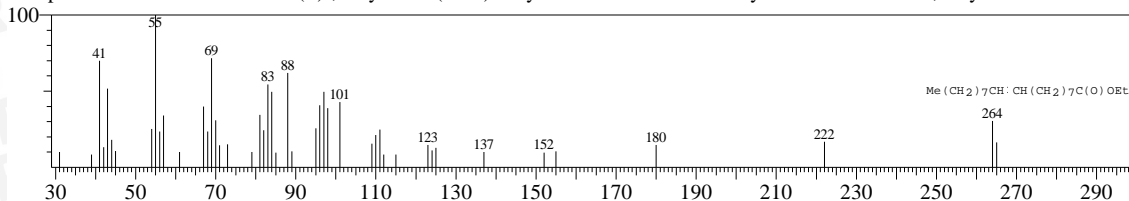
Hit#:2 Entry:192946 Library:WILEY7.LIB
 SI:81 Formula:C18 H34 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:282 RetIndex:0
 CompName:ETHYL 9-HEXADECENOATE \$ \$



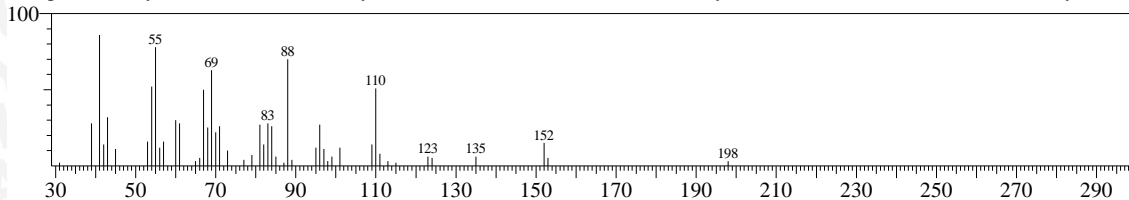
Hit#:3 Entry:221400 Library:WILEY7.LIB
 SI:78 Formula:C20 H38 O2 CAS:111-62-6 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:ETHYL OCTADEC-9-ENOATE \$ \$



Hit#:4 Entry:221399 Library:WILEY7.LIB
 SI:78 Formula:C20 H38 O2 CAS:111-62-6 MolWeight:310 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, ethyl ester (CAS) Ethyl oleate \$ \$ Oleic acid ethyl ester \$ \$ Oleic acid, ethyl ester \$ \$

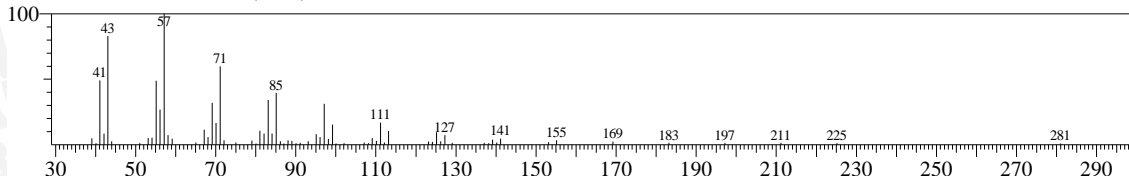


Hit#:5 Entry:93478 Library:WILEY7.LIB
 SI:77 Formula:C12 H22 O2 CAS:7367-84-2 MolWeight:198 RetIndex:0
 CompName:Ethyl cis-4-decenoate \$ \$ ethyl Z-4-decenoate \$ \$ 4-Decenoic acid, ethyl ester, (Z)- (CAS) 4-Decenoic acid, ethyl ester, (Z)-

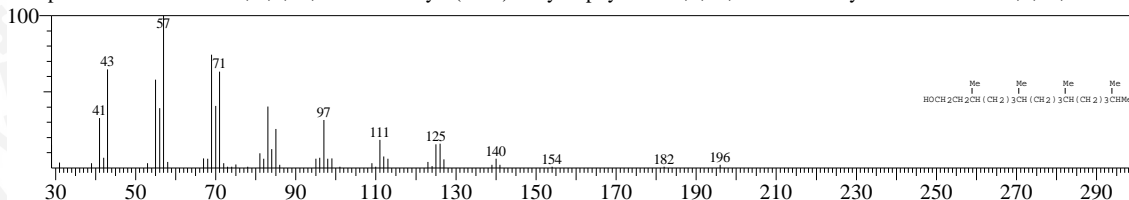


<< Target >>

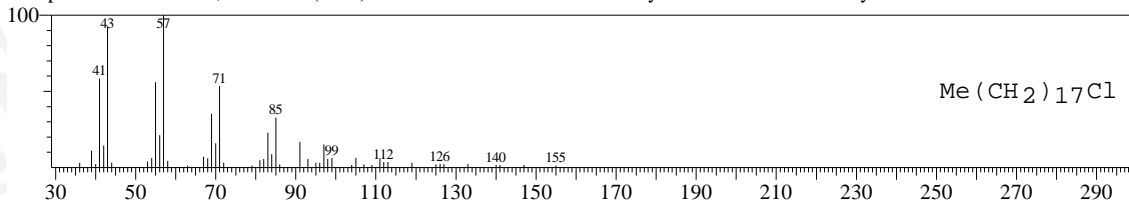
Line#:19 R.Time:26.442(Scan#:2694) MassPeaks:69
 RawMode:Single 26.442(2694) BasePeak:57.10(49530)
 BG Mode:Peak Start 26.267(2673)



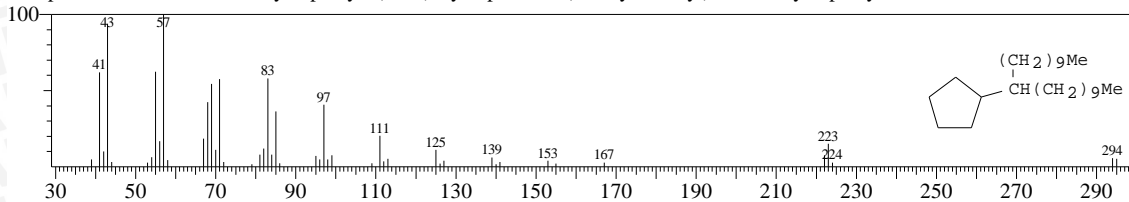
Hit#:1 Entry:209951 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C20 H42 O CAS:645-72-7 MolWeight:298 RetIndex:0
 CompName:1-Hexadecanol, 3,7,11,15-tetramethyl- (CAS) Dihydrophytol \$\$ 3,7,11,15-Tetramethylhexadecanol \$\$ 3,7,11,15-TETF



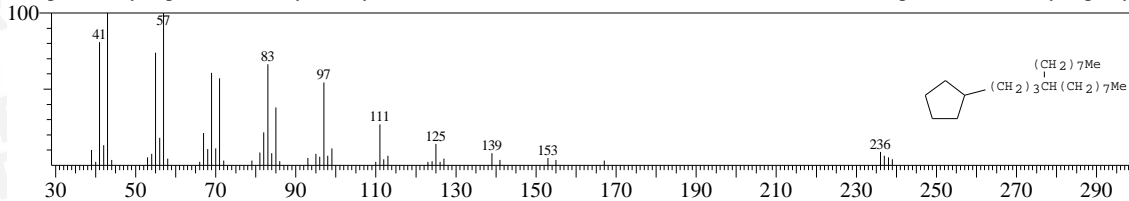
Hit#:2 Entry:199672 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C18 H37 Cl CAS:3386-33-2 MolWeight:288 RetIndex:0
 CompName:Octadecane, 1-chloro- (CAS) 1-Chlorooctadecane \$\$ Octadecyl chloride \$\$ n-Octadecyl chloride \$\$ Chlorooctadecane



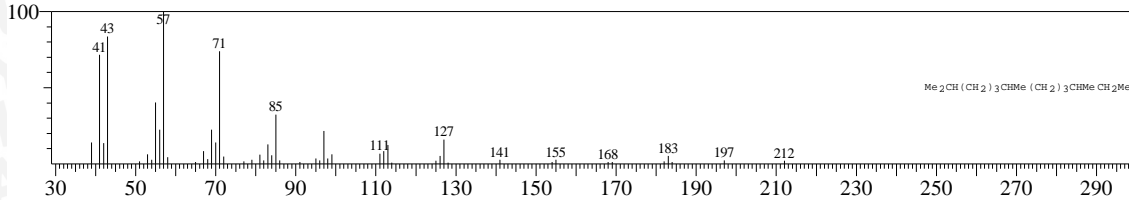
Hit#:3 Entry:264137 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C26 H52 CAS:6703-81-7 MolWeight:364 RetIndex:0
 CompName:Heneicosane, 11-cyclopentyl- (CAS) Cyclopentane, (1-decylundecyl)- \$\$ 11-Cyclopentylheneicosane \$\$



Hit#:4 Entry:254465 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C25 H50 CAS:5638-9-5 MolWeight:350 RetIndex:0
 CompName:Cyclopentane, (4-octylododecyl)- (CAS) 1-CYCLOPENTYL-4-OCTYLDODECANE \$\$ Heptadecane, 9-(3-cyclopentyl)

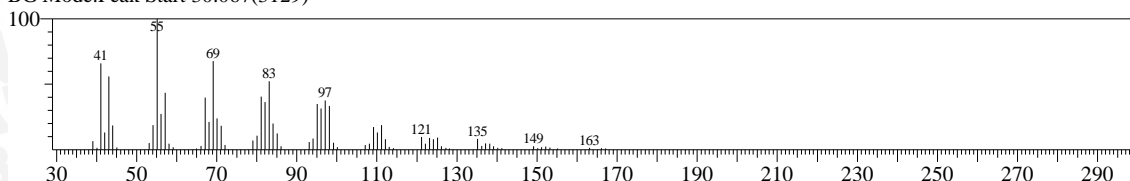


Hit#:5 Entry:111415 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C15 H32 CAS:3891-98-3 MolWeight:212 RetIndex:0
 CompName:Dodecane, 2,6,10-trimethyl- (CAS) Farnesane \$\$ Farnesane \$\$ 2,6,10-Trimethyldodecane \$\$

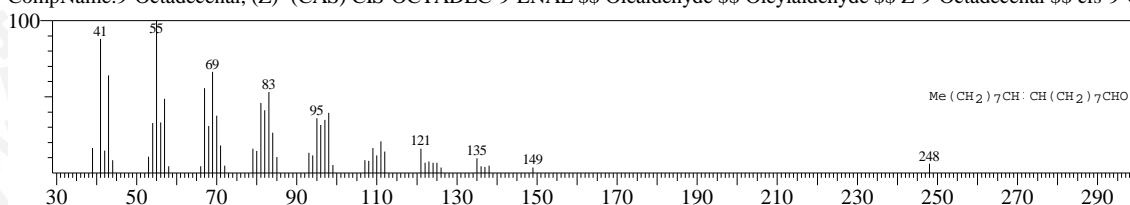


<< Target >>

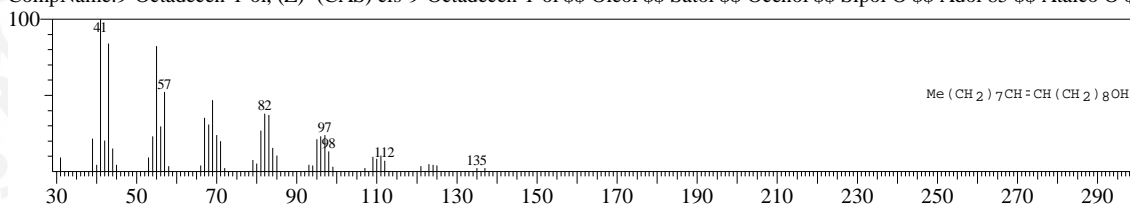
Line#:20 R.Time:30.175(Scan#:3142) MassPeaks:70
 RawMode:Single 30.175(3142) BasePeak:55.10(47677)
 BG Mode:Peak Start 30.067(3129)



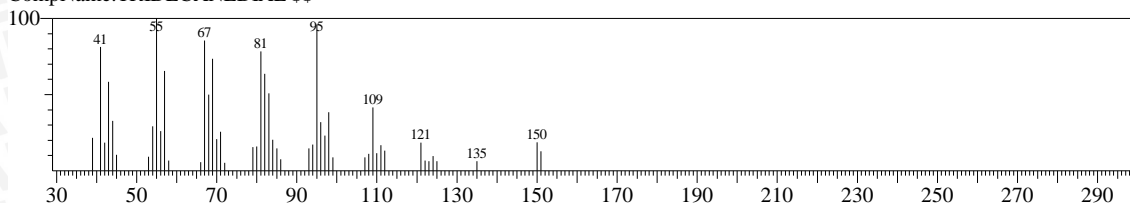
Hit#:1 Entry:175612 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C18 H34 O CAS:2423-10-1 MolWeight:266 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecenal, (Z)- (CAS) CIS-OCTADEC-9-ENAL \$\$ Olealdehyde \$\$ Oleylaldehyde \$\$ Z-9-Octadecenal \$\$ cis-9-O



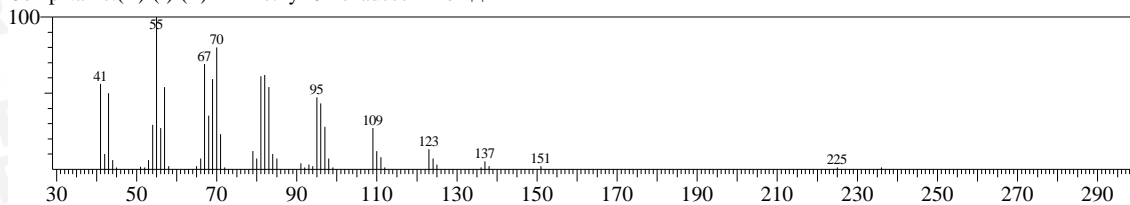
Hit#:2 Entry:178160 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C18 H36 O CAS:143-28-2 MolWeight:268 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecen-1-ol, (Z)- (CAS) cis-9-Octadecen-1-ol \$\$ Oleol \$\$ Satol \$\$ Ocenol \$\$ Sipol O \$\$ Adol 85 \$\$ Atalco O \$\$



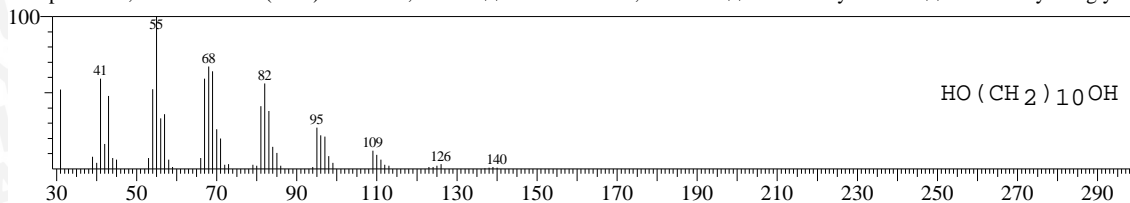
Hit#:3 Entry:110695 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C13 H24 O2 CAS:63521-76-6 MolWeight:212 RetIndex:0
 CompName:TRIDECANEDIAL \$\$



Hit#:4 Entry:162326 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C17 H34 O CAS:30689-78-2 MolWeight:254 RetIndex:0
 CompName:(R)-(-)-(Z)-14-Methyl-8-hexadecen-1-ol \$\$

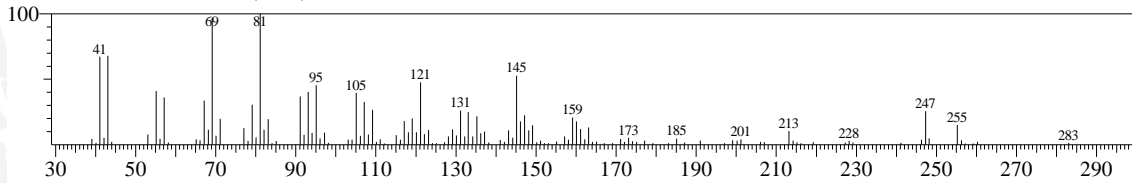


Hit#:5 Entry:65234 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C10 H22 O2 CAS:112-47-0 MolWeight:174 RetIndex:0
 CompName:1,10-Decanediol (CAS) Decane-1,10-diol \$\$ N-DECANE-1,10-DIOL \$\$ Decamethylenediol \$\$ Decamethylene glycol

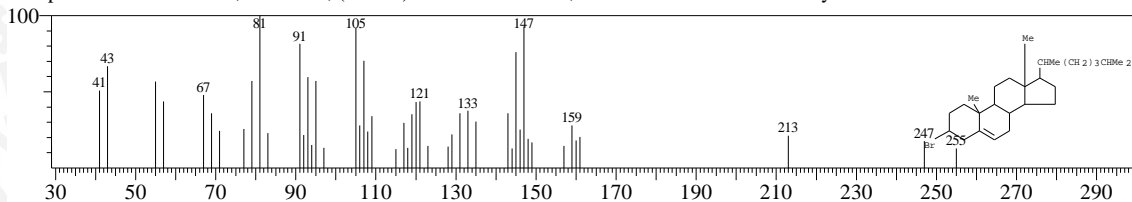


<< Target >>

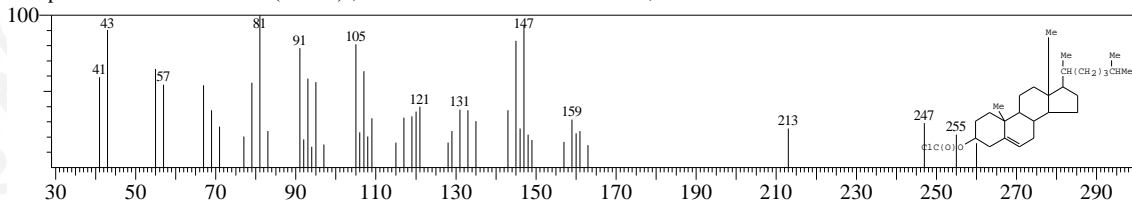
Line#:21 R.Time:34.850(Scan#:3703) MassPeaks:128
 RawMode:Single 34.850(3703) BasePeak:81.10(22756)
 BG Mode:Peak Start 34.642(3678)



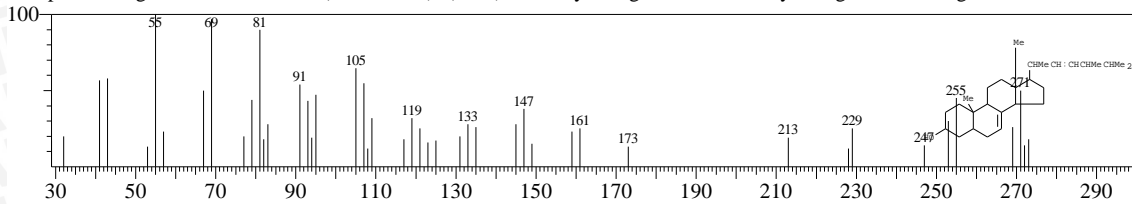
Hit#:1 Entry:303859 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C27 H45 BR CAS:516-91-6 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3.beta.)- \$\$ Cholest-5-ene, 3.beta.-bromo- \$\$ Cholesteryl bromide \$\$ 3.beta.-Bromocholest-



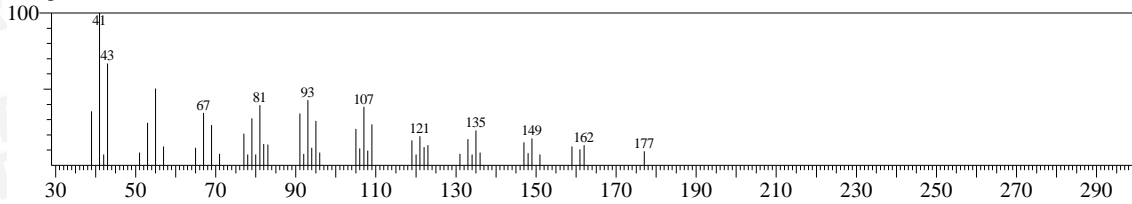
Hit#:2 Entry:303882 Library:WILEY7.LIB
 SI:82 Formula:C28 H45 CL O2 CAS:7144-8-3 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, carbonochloridate \$\$ Cholesterol, chloroformate \$\$ Cholesterol chloroformate \$\$ Choleste



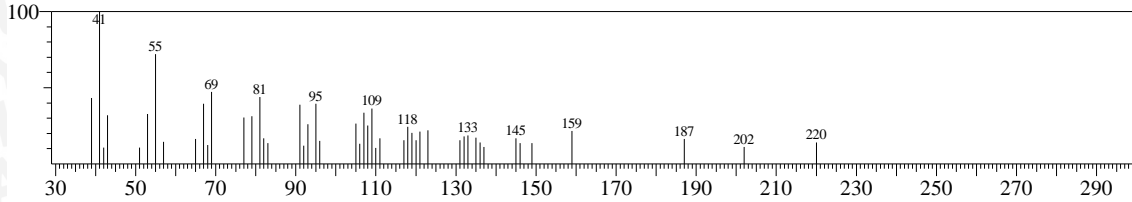
Hit#:3 Entry:283595 Library:WILEY7.LIB
 SI:78 Formula:C28 H46 O CAS:17608-76-3 MolWeight:398 RetIndex:0
 CompName:Ergosta-7,22-dien-3-ol, (3.beta.,22E)- (CAS) 5,6-Dihydroergosterol \$\$ 5-Dihydroergosterol \$\$ Ergosta-7,22-dien-3.beta



Hit#:4 Entry:120556 Library:WILEY7.LIB
 SI:77 Formula:C15 H24 O CAS:0-0-0 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:ISOAROMADENDRENEPOXID \$\$

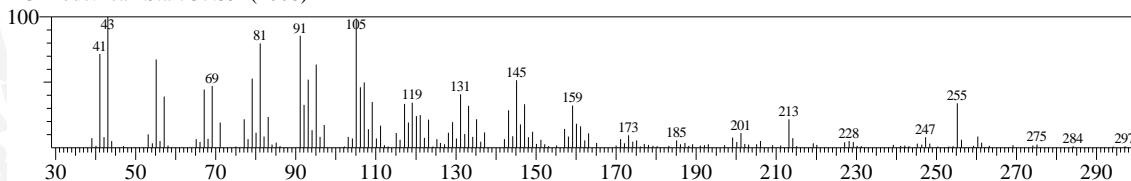


Hit#:5 Entry:120555 Library:WILEY7.LIB
 SI:76 Formula:C15 H24 O CAS:0-0-0 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:LONGIPINOCARVEOL, TRANS- \$\$

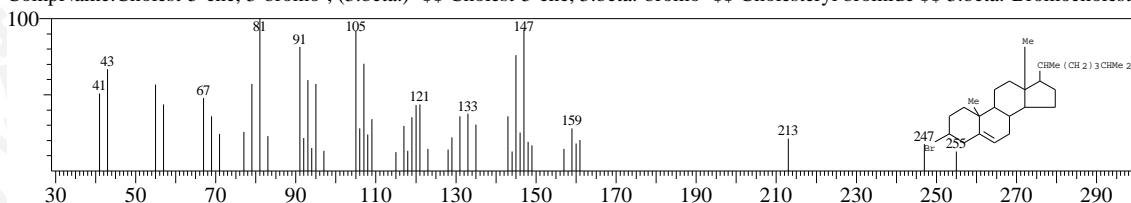


<< Target >>

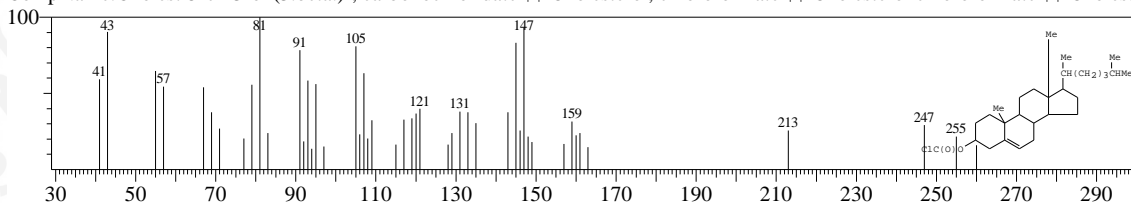
Line#:22 R.Time:37.642(Scan#:4038) MassPeaks:156
 RawMode:Single 37.642(4038) BasePeak:43.10(13165)
 BG Mode:Peak Start 37.392(4008)



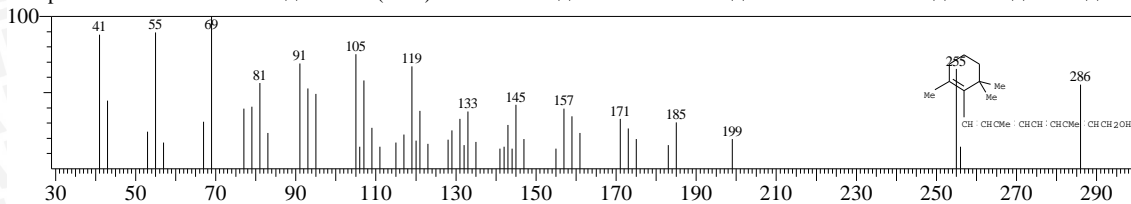
Hit#:1 Entry:303859 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C27 H45 BR CAS:516-91-6 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3.beta.)- \$ Cholest-5-ene, 3.beta.-bromo- \$ Cholesteryl bromide \$ 3.beta.-Bromocholest-



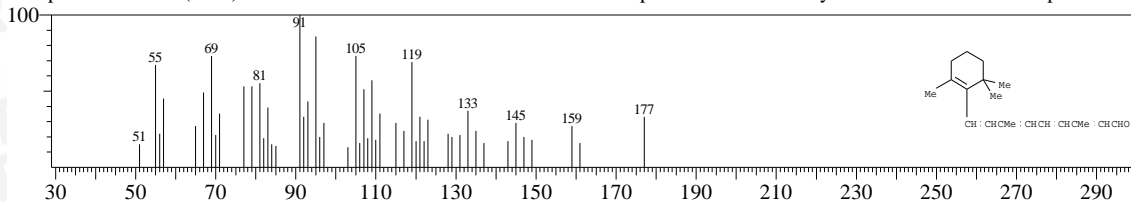
Hit#:2 Entry:303882 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C28 H45 CL O2 CAS:7144-8-3 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, carbonochloridate \$ Cholesterol, chloroformate \$ Cholesterol chloroformate \$ Choleste



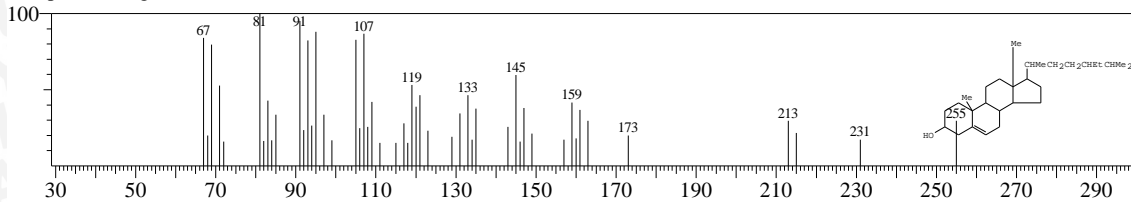
Hit#:3 Entry:197720 Library:WILEY7.LIB
 SI:77 Formula:C20 H30 O CAS:68-26-8 MolWeight:286 RetIndex:0
 CompName:Vitamin A alcohol \$ Retinol (CAS) VITAMIN A \$ Retro-vitamin A \$ All-trans-vitamin A \$ Acon \$ Atav \$ Avi



Hit#:4 Entry:195666 Library:WILEY7.LIB
 SI:76 Formula:C20 H28 O CAS:116-31-4 MolWeight:284 RetIndex:0
 CompName:Retinal (CAS) Retinene \$ E-Retinal \$ Retinene1 \$ Axerophthal \$ Retinaldehyde \$ trans-Retinal \$.alpha.-Retin

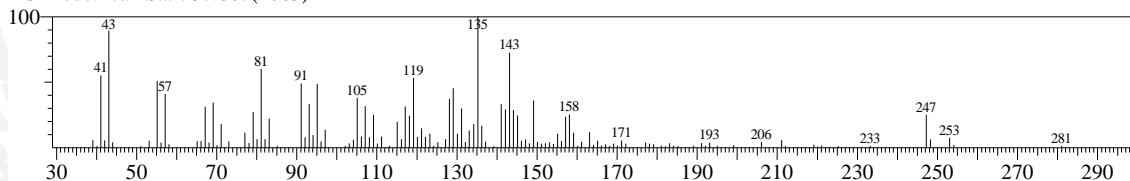


Hit#:5 Entry:291301 Library:WILEY7.LIB
 SI:76 Formula:C29 H50 O CAS:83-46-5 MolWeight:414 RetIndex:0
 CompName:Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.)- (CAS) 24.BETA.-ETHYL-5.DELTA.-CHOLESTEN-3.BETA.-OL \$ SKF 14463 \$ Rha

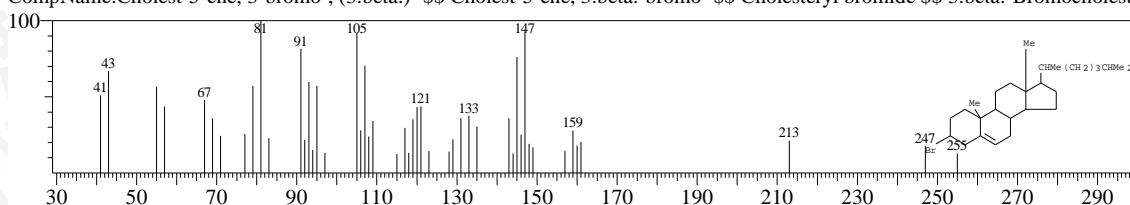


<< Target >>

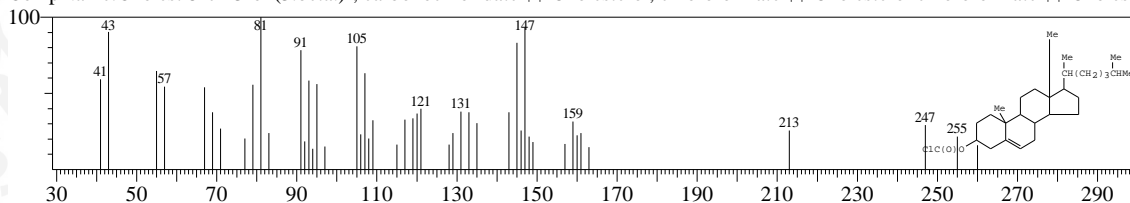
Line#:23 R.Time:38.100(Scan#:4093) MassPeaks:127
 RawMode:Single 38.100(4093) BasePeak:135.20(22392)
 BG Mode:Peak Start 37.867(4065)



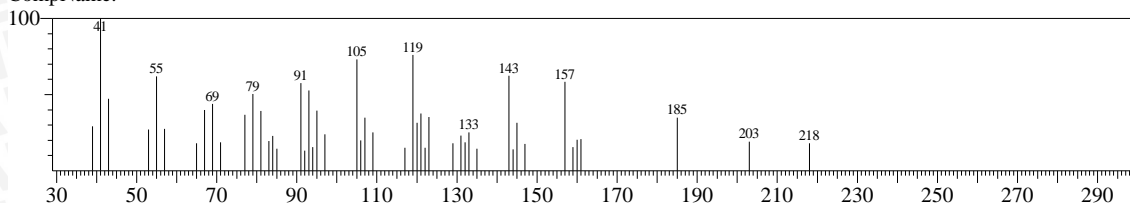
Hit#:1 Entry:303859 Library:WILEY7.LIB
 SI:75 Formula:C27 H45 BR CAS:516-91-6 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3.beta.)- \$ Cholest-5-ene, 3.beta.-bromo- \$ Cholesteryl bromide \$ 3.beta.-Bromocholest-



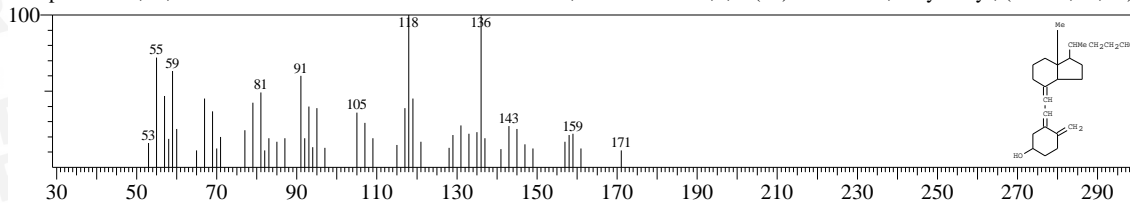
Hit#:2 Entry:303882 Library:WILEY7.LIB
 SI:74 Formula:C28 H45 CL O2 CAS:7144-8-3 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, carbonochloridate \$ Cholesterol, chloroformate \$ Cholesterol chloroformate \$ Choleste



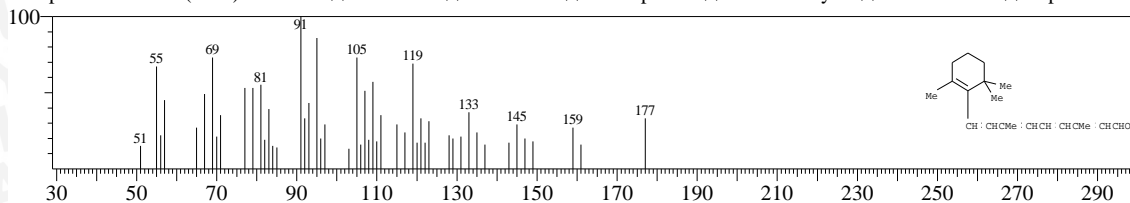
Hit#:3 Entry:140544 Library:WILEY7.LIB
 SI:72 Formula:C15 H24 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:236 RetIndex:0
 CompName:



Hit#:4 Entry:258514 Library:WILEY7.LIB
 SI:70 Formula:C24 H36 O2 CAS:40013-88-5 MolWeight:356 RetIndex:0
 CompName:25,26,27-TRISNORCHOLECALCIFER-24-AL \$ 9,10-Secochole-5,7,10(19)-trien-24-al, 3-hydroxy-, (3.beta.,5Z,7E)-

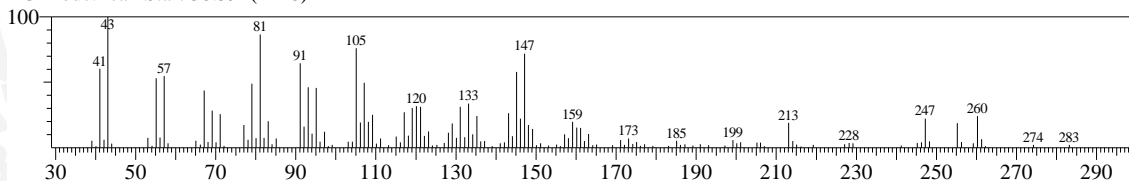


Hit#:5 Entry:195666 Library:WILEY7.LIB
 SI:66 Formula:C20 H28 O CAS:116-31-4 MolWeight:284 RetIndex:0
 CompName:Retinal (CAS) Retinene \$ E-Retinal \$ Retinene1 \$ Axerophthal \$ Retinaldehyde \$ trans-Retinal \$.alpha.-Retin

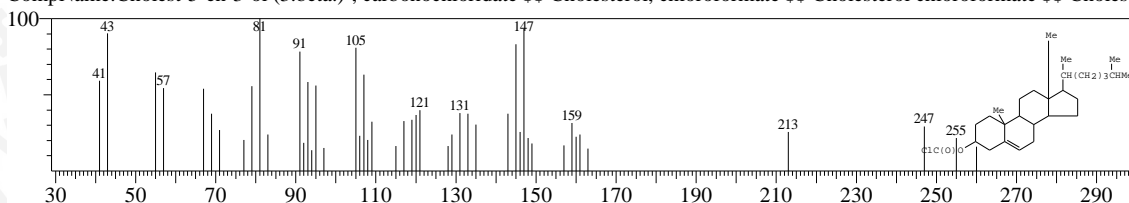


<< Target >>

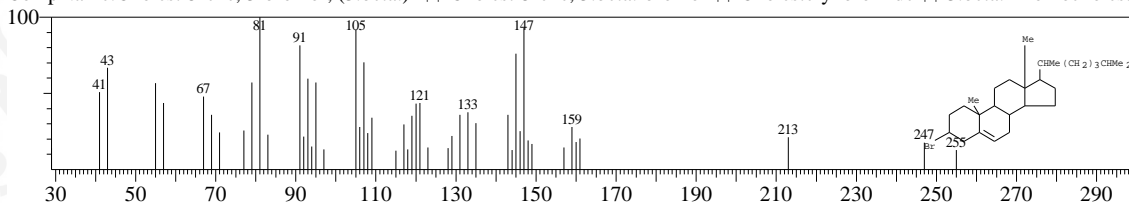
Line#:24 R.Time:38.792(Scan#:4176) MassPeaks:138
 RawMode:Single 38.792(4176) BasePeak:43.10(57945)
 BG Mode:Peak Start 38.392(4128)



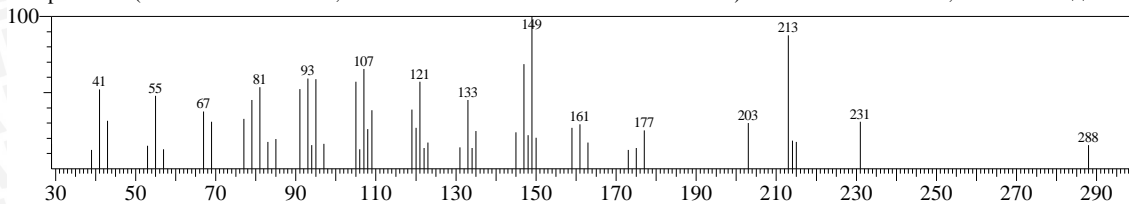
Hit#:1 Entry:303882 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C28 H45 CL O2 CAS:7144-8-3 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, carbonochloridate \$\$ Cholesterol, chloroformate \$\$ Cholesterol chloroformate \$\$ Cholest



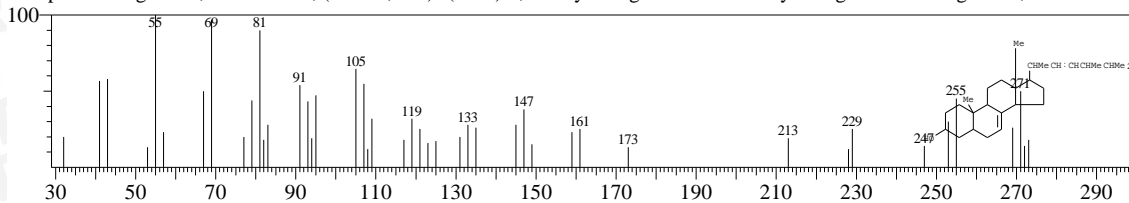
Hit#:2 Entry:303859 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C27 H45 BR CAS:516-91-6 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3.beta.)- \$\$ Cholest-5-ene, 3.beta.-bromo- \$\$ Cholesteryl bromide \$\$ 3.beta.-Bromocholest-



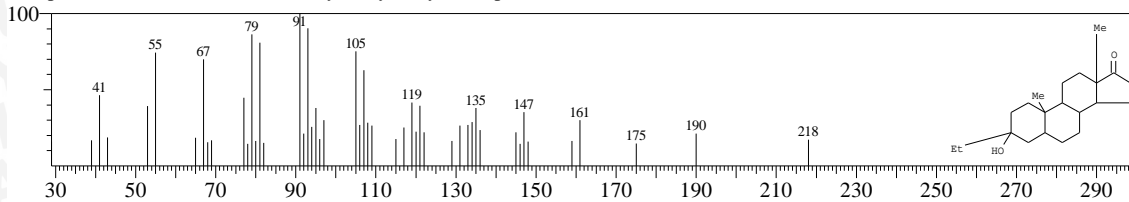
Hit#:3 Entry:199452 Library:WILEY7.LIB
 SI:76 Formula:C20 H32 O CAS:0-0-0 MolWeight:288 RetIndex:0
 CompName:5-(7A-ISOPROPENYL-4,5-DIMETHYL-OCTAHYDRO-INDEN-4-YL)-3-METHYL-PENTA-2,4-DIEN-1-O \$\$



Hit#:4 Entry:283595 Library:WILEY7.LIB
 SI:75 Formula:C28 H46 O CAS:17608-76-3 MolWeight:398 RetIndex:0
 CompName:Ergosta-7,22-dien-3-ol, (3.beta.,22E)- (CAS) 5,6-Dihydroergosterol \$\$ 5-Dihydroergosterol \$\$ Ergosta-7,22-dien-3.βet

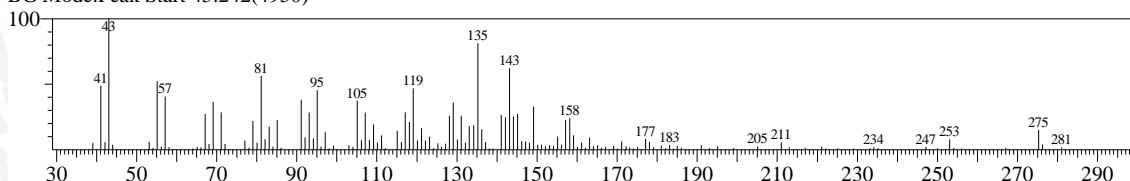


Hit#:5 Entry:228664 Library:WILEY7.LIB
 SI:75 Formula:C21 H34 O2 CAS:57344-99-7 MolWeight:318 RetIndex:0
 CompName:Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy-, (5.alpha.)- (CAS) 3-ETHYL-3-HYDROXY-17-OXO-5.ALPHA.-ANDROSTAN

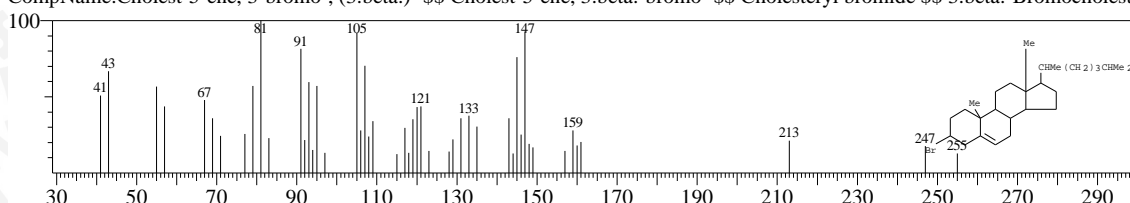


<< Target >>

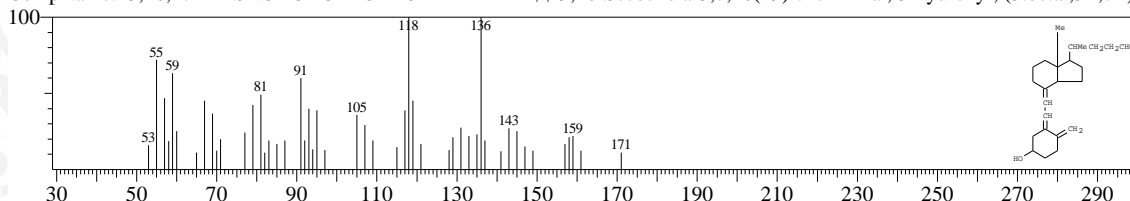
Line#:25 R.Time:45.517(Scan#:4983) MassPeaks:140
 RawMode:Single 45.517(4983) BasePeak:43.10(12995)
 BG Mode:Peak Start 45.242(4950)



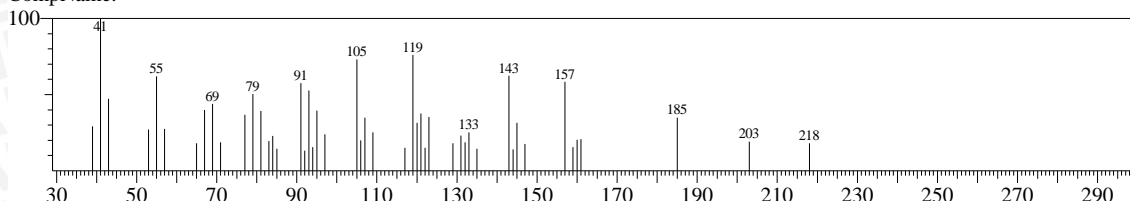
Hit#:1 Entry:303859 Library:WILEY7.LIB
 SI:71 Formula:C27 H45 BR CAS:516-91-6 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3.beta.)- \$\$ Cholest-5-ene, 3.beta.-bromo- \$\$ Cholesteryl bromide \$\$ 3.beta.-Bromocholest-



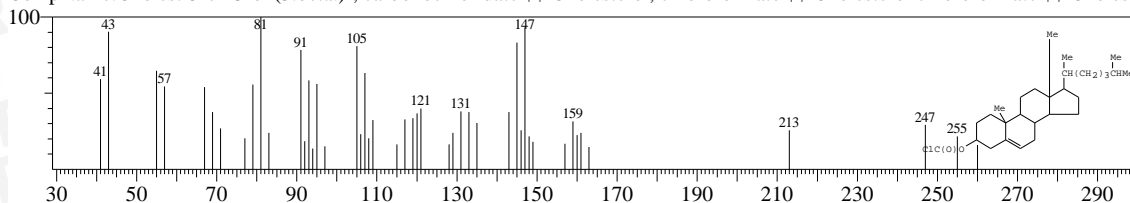
Hit#:2 Entry:258514 Library:WILEY7.LIB
 SI:71 Formula:C24 H36 O2 CAS:40013-88-5 MolWeight:356 RetIndex:0
 CompName:25,26,27-TRISNORCHOLECALCIFER-24-AL \$\$ 9,10-Secochola-5,7,10(19)-trien-24-al, 3-hydroxy-, (3.beta.,5Z,7E)-



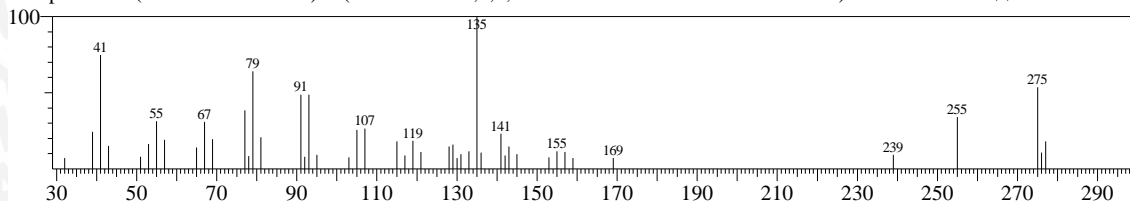
Hit#:3 Entry:140544 Library:WILEY7.LIB
 SI:70 Formula:C15 H24 O2 CAS:0-0-0 MolWeight:236 RetIndex:0
 CompName:



Hit#:4 Entry:303882 Library:WILEY7.LIB
 SI:69 Formula:C28 H45 CL O2 CAS:7144-8-3 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, carbonochloridate \$\$ Cholesterol, chloroformate \$\$ Cholesterol chloroformate \$\$ Cholest

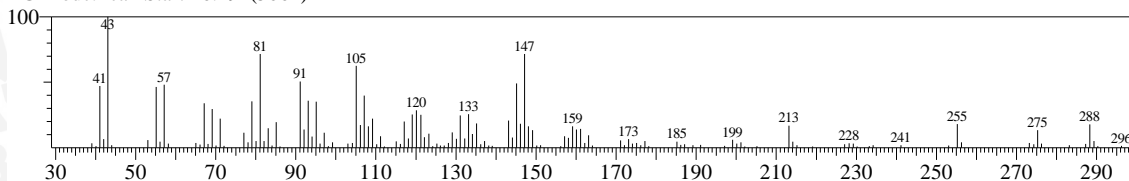


Hit#:5 Entry:201317 Library:WILEY7.LIB
 SI:67 Formula:C19 H27 CL CAS:0-0-0 MolWeight:290 RetIndex:0
 CompName:1-(ADAMANTHYL-1)-2-(1-CHLORO-2,2,3,3-TETRAMETHYLCYCLOPROPYL)ACETHYLENE \$\$

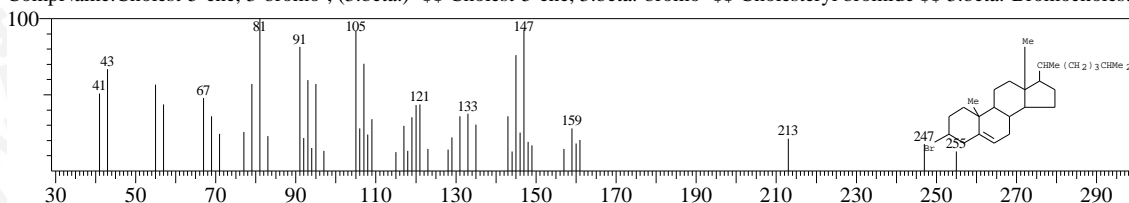


<< Target >>

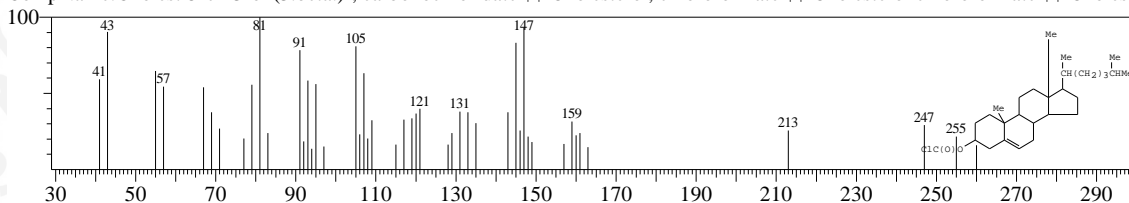
Line#:26 R.Time:46.525(Scan#:5104) MassPeaks:134
 RawMode:Single 46.525(5104) BasePeak:43.10(31856)
 BG Mode:Peak Start 46.192(5064)



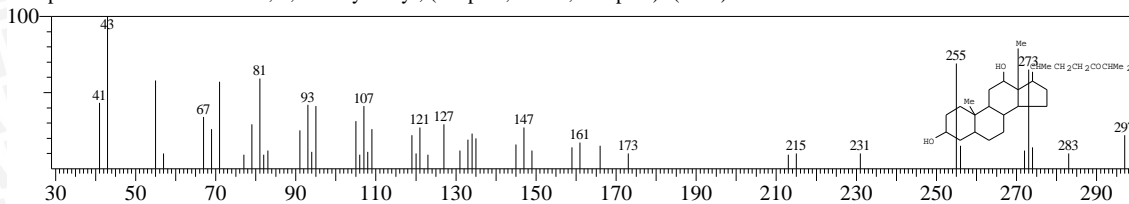
Hit#:1 Entry:303859 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C27 H45 BR CAS:516-91-6 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3.beta.)- \$ Cholest-5-ene, 3.beta.-bromo- \$ Cholesteryl bromide \$ 3.beta.-Bromocholest-



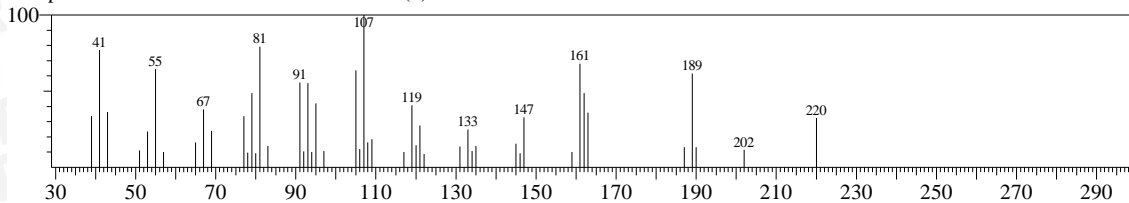
Hit#:2 Entry:303882 Library:WILEY7.LIB
 SI:85 Formula:C28 H45 CL O2 CAS:7144-8-3 MolWeight:448 RetIndex:0
 CompName:Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, carbonochloridate \$ Cholesterol, chloroformate \$ Cholesterol chloroformate \$ Choleste



Hit#:3 Entry:293009 Library:WILEY7.LIB
 SI:74 Formula:C27 H46 O3 CAS:56052-68-7 MolWeight:418 RetIndex:0
 CompName:Cholestan-24-one, 3,12-dihydroxy-, (3.alpha.,5.beta.,12.alpha.)- (CAS)



Hit#:4 Entry:120553 Library:WILEY7.LIB
 SI:73 Formula:C15 H24 O CAS:0-0-0 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:GAMMA-GURJUNENEPOXID-(2) \$



Hit#:5 Entry:283595 Library:WILEY7.LIB
 SI:73 Formula:C28 H46 O CAS:17608-76-3 MolWeight:398 RetIndex:0
 CompName:Ergosta-7,22-dien-3-ol, (3.beta.,22E)- (CAS) 5,6-Dihydroergosterol \$ 5-Dihydroergosterol \$ Ergosta-7,22-dien-3. bet

