KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI ANTI BAKTERI SPONS *Phyllospongia* sp. DI PERAIRAN YANG BERBEDA

Characterization of Secondary Metabolite Compounds and Antibacterial Test of Spons *Phyllospongia* Sp. in Different Waters

Adi Sahputra R¹, Baru Sadarun², dan Idin Sahidin³

¹Mahasiswa Jurusan Ilmu Kelautan,

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Halu Oleo.

Jl. H.E.A Mokodompit Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Kendari 93232, Telp/Fax: (0401) 3193782

²Surel: sadarunbaru@gmail.com

³Surel: sahidin02@yahoo.com

Abstrak

Pembentukan senyawa metabolit sekunder dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Jenis senyawa yang sama pada lingkungan yang berbeda akan menghasilkan metabolit yang berbeda. Penelitian ini dilaksanakan di Perairan Tanjung Tiram yang merupakan perairan terbuka dan di Lalanu yang mewakili perairan semi tertutup. Keberadaan spons jenis *Phyllospongia* sp yang mampu hidup di perairan tersebut menunjukkan adanya potensi kandungan metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kandungan senyawa metabolit sekunder dari kedua perairan tersebut. Metode yang digunakan adalah ekstraksi, uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) fitokimia dan difusi untuk mengevaluasi antibakteri. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa telah teridentifikasi 3 macam senyawa bioaktif yakni alkaloid, steroid/terpenoid, Flavanoid/venolik. Kandungan metabolit sekunder tertinggi terutama Steroid/Terpenoid dan Fenolik/Flafanoid dari ekstrak *Phyllospongia* sp berasal dari perairan tertutup dengan nilai RF 0,65 dan RF 0,625. Ekstrak *Phyllospongia* sp berpotensi sebagai antibakteri aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 200 ppm dengan diameter zona hambat sebesar 10,2 mm.

Kata kunci : *Phyllospongia* sp., perairan terbuka, perairan tertutup, metabolit sekunder, antibakteri.

Abstract

The formation of secondary metabolites is influenced by environmental factors. The same types of compounds in different environments will also produce different metabolites. This research was conducted in two different locations namely Tanjung Tiram which represent open waters and Lalanu which represent semi-closed waters. The presence of *Phyllospongia* sp. of sponges in these locations showed the potential of secondary metabolite content. This study aimed to determine the content of secondary metabolites from these two different locations. Methods used were extraction, phytochemical TLC (Thin Layer Chromatography) test, and diffusion to evaluate antibacterial. This study has identified 3 types of bioactive compounds namely alkaloids, steroids/terpenoids, and flavanoids/venicas. The highest content of secondary metabolites, especially Steroids/Terpenoids and Phenolic/Flafanoids from *Phyllospongia* sp. was found on extract originated from semi-closed waters with RF values 0.65 and 0.625 respectively. *Phyllospongia* sp. extract has the potential to be an active antibacterial against *Staphylococcus aureus* with concentration 200 ppm and 10.2 mm of inhibition zone diameter.

Keywords: *Phyllospongia* sp., open water, semi-close water, secondary metabolites, antibacterial.

Pendahuluan

Biota laut (*marine organism*) merupakan sumber bahan alam yang sangat kaya dengan aktivitas biologi yang unik. Salah satu contoh biota laut adalah spons. Beberapa tahun terakhir ini para peneliti lebih mencurahkan perhatiannya pada spons, berkaitan dengan senyawa bahan alam (metabolit sekunder) yang terkandung di dalamnya. Senyawa bahan alam ini banyak dimanfaatkan dalam bidang farmasi, karena memiliki sifat bioaktif (Pronzato *et al.*, 1999).

Metode yang digunakan yakni metode maserasi menggunakan pelarut aseton untuk mendapatkan ekstrak dari spons *Phyllospongia* sp. tersebut, kemudian ekstrak spons diuji kandungan profil metabolit sekundernya menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Aktivitas biologi sebagai anti bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*, menggunakan metode difusi agar dan dihitung aktifitas anti bakterinya berdasar diameter zona hambat atau zona bening.

Adanya spons *Phyllospongia* sp. yang dapat hidup di perairan terbuka seperti perairan Tanjung Tiram dan dapat pula ditemukan pada perairan tertutup seperti pada perairan Lalanu serta dari beberapa literatur yang menunjukkan adanya potensi metabolit sekunder. Hal ini yang menjadi pertimbangan untuk melakukan penelitian tentang karakterisasi senyawa metabolit sekunder dan uji anti bakteri spons *Phyllospongia* sp. di perairan yang berbeda.

Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan melalui dua tahapan yakni pengambilan data lapangan dan analisis sampel. Pengambilan data lapangan dilaksanakan pada Juni 2018, bertempat di Perairan Tanjung Tiram Kecamatan Moramo utara, Kabupaten Konawe Selatan dan di Perairan Bintang Samudra Kecamatan Soropia, Kabupaten Konawe, Sulawesi Tenggara. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Farmasi, Universitas Halu Oleo.

Alat dan Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu

1. Alat Lapangan

Handrefractometer, GPS, Layangan Arus, Thermometer, *Secchi Disk*, Alat Selam Dasar, Underwater Camera, *Stopwatch*, *Cool Box*.

2. Alat Laboratorium

Timbangan Analitik, Gelas Piala, Gelas Ukur, Jarum Ose Bulat, Pipet Skala, Cawan Petri, Hot Plate, Botol Semprot, Corong Pisah, Laminar Air Flow, Pipet Tetes, Kertas Saring, Oven, Vacum rotary evaporator, Lampu Spiritus, Pipa Kapiler, Inkubator, Mistar, Autoclave, Spektrofotometer, Kuvet, Cutter, Rak Tabung, Tabung Reaksi.

3. Bahan

Alkohol, Aseton, Asam Sulfat Pekat, Kloroform-aminiak, silika gel Nutrient Borth, Nutrient Agar, Reagen Dragendorf, Pereaksi libermanbucard, FeCl 3 1%, Klormfenikol, *S. aureus*, *S. Typhi*, *Phyllospongia* sp.

Metodologi Penelitian
Langkah awal sebelum melakukan penelitian yaitu survey pendahuluan Survey ini bertujuan untuk mengetahui kondisi lokasi penelitian serta untuk melihat ada atau tidaknya sampel spons *Phyllospongia* sp. Hasil dari survey ini dijadikan sebagai dasar untuk penentuan lokasi pengambilan sampel.

Gambar 1. Bagan Alur Penelitian

Gambar 1. Bagan Alur Penelitian

Pengambilan sampel Spons *Phyllospongia* sp.

Pengambilan sampel spons *Phyllospongia* sp. dilakukan diperairan Tanjung Tiram kecamatan Moramo, Kabupaten Konawe Selatan dan di Perairan Bintang Samudra Kecamatan Soropia, Kabupaten Konawe dengan metode koleksi bebas (*free handpicking*), yaitu berdasarkan keberadaan Spons *Phyllospongia* sp. Spons *Phyllospongia* sp. diambil sebanyak 500 gram atau sebanyak 10% dari spesies yang mewakili pada tiap zona Terbuka dan tertutup pada kedalaman 2-5 meter menggunakan alat Scuba Diving. Sampel tersebut kemudian di masukkan dalam cool box sampel yang diberi es dan selanjutnya dibawa ke laboratorium.

Pengukuran Parameter Lingkungan Perairan

Parameter fisik kimia perairan berupa suhu, salinitas, kecerahan, kedalaman, kecepatan arus dan intensitas cahaya. Pengukuran parameter fisik kimia perairan dilakukan pada tiap-tiap stasiun penelitian yang selanjutnya dijelaskan sebagai berikut:

Analisis Laboratorium

Sampel yang telah diambil dari perairan Tanjung Tiram dan Bintang Samudra selanjutnya dianalisis di Laboratorium, untuk menganalisis senyawa bioaktif yang terkandung pada *Phyllospongia* sp. digunakan beberapa metode sebagai berikut.

Ekstraksi *Phyllospongia* sp. Metode Meserasi

Ekstraksi komponen bioaktif pada *Phyllospongia* sp. menggunakan metode ekstraksi maserasi. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi yaitu aseton. Sampel *Phyllospongia* sp. sebanyak 100g dipotong kecil-kecil lalu dilakukan maserasi.

Tabel 1. Uji senyawa bioaktif menggunakan pereaksi spesifik Harbone (1987).

No	Jenis Senyawa	Pereaksi	Warna
1	Alkaloid	Wagner-mayer-dragendorff	Jingga-Coklat/kuning
2	Terpenoid	Lieberman-Bucard	Biru-Ungu
3	Steroid	Lieberman-Bucard	Biru-Hijau
4	Flavonoid	Besi (III) klorida	Jingga-Merah
5	Fenolik	Besi (III) klorida	Biru-Ungu

Maserasi dilakukan menggunakan pelarut aseton dengan waktu maserasi 3x24 jam, tujuannya agar komponen bioaktif pada *Phyllospongia* sp. terlarut dalam pelarut. Penggunaan aseton (semi polar) diawal ekstraksi karena sifat kepolaran pelarut sesuai dengan sifat tubuh spons yang sebagian besar terdiri dari air dan garam.

Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh residu dan filtrat yang diinginkan. sedangkan filtratnya dievaporasi hingga didapatkan pelarut dan ekstrak yang terpisah (ekstrak aseton). Alur penelitian Karakterisasi Senyawa Metabolit dan Uji Anti Bakteri Spons *Phyllospongia* Sp. berdasarkan lokasi yang berbeda di Perairan terbuka dan Perairan tertutup. Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar berikut.

Pengujian Kandungan Metabolit Sekunder

Pengujian Kandungan Metabolit Sekunder *Phyllospongia* sp. dilakukan dengan metode kromatografi lapisan tipis (KLT) dengan menggunakan pereaksi spesifik serta penjelasannya menurut Harbone (1987).

Adapun cara pembuatan pereaksi spesifik untuk menguji kandungan metabolit sekunder pada *Phyllospongia* sp. dengan menggunakan metode kromatografi lapisan tipis (KLT) yaitu sejumlah sampel dilarutkan dengan aseton kemudian homogenkan, ambil sampel menggunakan pipet mikro lalu totolkan pada plat KLT dan masukkan dalam chamber yang berisi pelarut N-Heksana dan Aseton dengan perbandingan 5:5, 7:3 dan 8:2 tunggu beberapa saat hingga plat terabsorpsi seluruhnya. Untuk melihat penampakan noda pemisahan senyawa, maka digunakan sinar UV (Ultra Violet).

(a) Alkaloid

Hasil uji dinyatakan positif bila pereaksi Meyer terbentuk endapan putih kekuningan, endapan coklat dengan pereaksi Wagner, dan endapan merah sampai jingga dengan pereaksi Dragendorff.

(b) Terpenoid/Steroid

Terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali, kemudian berubah menjadi biru dan ungu atau biru dan hijau menunjukkan reaksi positif.

(c) Flavonoid dan Fenolik

Adanya flavonoid/fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga sampai kemerahan untuk flavonoid dan terbentuknya warna biru hingga keunguan untuk fenolik dengan penyempotan besi (III) klorida pada lembaran plat yang telah ditetesi ekstrak Spons *Phyllospongia* sp.

Uji Daya Hambat Anti Bakteri

Pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui jenis ekstrak sponge yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *S. typhi* dan *E. coli* sebagai bakteri uji serta digunakan pembanding yaitu kloramfenikol sebagai kontrol positif pengujian. Metode dalam pengujian aktivitas antibakteri menurut Rahma (2013), sebagai berikut :

1) Sterilisasi Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat penelitian yang di gunakan dalam pengujian antibakter seperti Cawan petri, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, tabung reaksi, penjepit, spatula, *Nutrient Agar* (NA), dan kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah dimasukkan dalam cawan petri disterilisasi di dalam autoklaf dan disterilkan selama kurang lebih 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

2) Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)

Komponen medium ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik untuk volume yang digunakan sesuai dengan komposisi NA (*beef* ekstrak 10 g/L, pepton 10 g/L, agar-agar 15 g/L). Semua komponen tersebut, dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm.

3) Pembuatan NB (Nutrient Broth)

Komposisi untuk media NB sama dengan NA, namun tidak memakai agar sebagai pematat. Proses pembuatan lebih

sederhana yaitu dengan melarutkan *beef* ekstrak 10 g/L, pepton 10 g/L, NaCl 15 g/L, kemudian ditampung dalam tabung reaksi dan siap sterilisasi. Proses pembuatan ini tidak memerlukan panas.

4) Pembuatan Natrium Klorida (NaCl) 0,9%

Pembuatan Natrium Klorida yaitu dengan menimbang padatan NaCl sebanyak 0,9 gram kemudian dilarutkan dalam air suling sedikit demi sedikit hingga semua larut, dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 12°C selama 15 menit.

5) Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan terdiri dari dua jenis bakteri yaitu *S. aureus* dan *S. typhi*. Bakteri yang digunakan masing-masing diremajakan dengan cara memindahkan 1 atau 2 ose yang ditanamkan pada media NA, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

6) Pembuatan Suspensi Bakteri uji

Bakteri yang akan diuji disuspensikan dengan cara diambil dari stok kultur dengan jarum ose steril, kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan *nutrient broth*, diinkubasi pada inkubator hingga homogeny (Difco dan BBL Manual, 2009).

7) Pengujian Daya Hambat Ekstrak pada bakteri uji

Langkah-langkah pengujian daya hambat antibakteri:

- Sebanyak masing-masing 15 ml media agar dituang dalam cawan petri steril.
- Biakan bakteri pada suspensi dengan diambil sebanyak 1 ml dan dituang ke dalam cawan petri steril lalu dihomogenkan dengan media agar.
- Masing-masing ekstrak sebanyak 20 µl ditetaskan pada kertas cakram steril dan dibiarkan beberapa saat. Selain ekstrak, juga digunakan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif dalam pengujian.
- Kertas cakram yang sudah kering dan kloramfenikol diletakkan secara teratur di atas medium agar yang mengandung bakteri uji dan kemudian diberi label.
- Cawan petri yang berisi bakteri uji dan ekstrak senyawa antibakteri tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Hasil uji daya hambat ekstrak pada bakteri didasarkan pada pengukuran diameter daerah hambat (DDH)

pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekeliling kertas cakram.

Analisis Data

Pengamatan dan pengumpulan data dilakukan dengan menghitung nilai dari data parameter fisika dan kimia laut, nilai rendemen, nilai RF dan mengukur diameter zona bening atau zona hambat pada uji aktifitas antimikrob terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. typhi* setelah masa inkubasi selama 24 jam kemudian zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan mistar. Data yang telah dikumpulkan dari hasil pengamatan dianalisa dan diolah menggunakan software komputer program *Microsoft Excell* 2007 dalam bentuk tabel dan diagram yang kemudian dideskripsikan.

Hasil dan Pembahasan

Proses maserasi merupakan suatu proses atau metode ekstraksi yang digunakan dalam penapisan senyawa bahan alam. Beberapa tahap dalam proses maserasi yaitu proses penghancuran simplisia, proses perendaman simplisia dengan pelarut, serta proses pemekatan sampel dengan vakum evaporator untuk menghasilkan ekstrak sampel, hal ini diacu pada (Saifudin, 2014) bahwa, ekstraksi merupakan hasil penyarian tersebut kemudian pelarutnya dihilangkan dengan cara penguapan dengan alat evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental jika pelarutnya pelarut organik. Jika pelarutnya air, pada tahap akhir dilakukan penghilangan total dengan cara liofilisasi menggunakan alat freeze dryer.

Pada penelitian ini, pengestrakan spons dilakukan dengan beberapa tahap/proses, yaitu proses penimbangan, proses penghancuran simplisia, proses perendaman (maserasi basah) yang bertujuan untuk tidak merusak komponen senyawa yang ada pada simplisia. Hal ini dilakukan menurut (Sahidin, 2018) bahwa, maserasi basah bertujuan agar senyawa biotif yang terdapat dalam simplisia tidak rusak.

Senyawa metabolit sekunder yang disintesis spons diduga sebagai pola pertahanan diri dari predator maupun lingkungan yang mengancam kehidupannya. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Harper *et al.* 2001) Produksi metabolit sekunder merupakan kompensasi akibat interaksi

dengan lingkungan biotik, abiotik dan sebagai senjata kimia terhadap predator. Peningkatan aktivitas pertahanan sebagai akibat kondisi lingkungan setempat merangsang proses metabolisme sekunder. Peningkatan laju metabolit sekunder tersebut merupakan bentuk pertahanan diri secara kimiawi (*chemical defense*).

Hasil identifikasi senyawa meabolit sekunder pada ekstrak Aseton spons *Phyllospongia* sp. Menunjukkan bahwa terdapat beberapa senyawa yaitu senyawa alkaloid, steroid/terpenoid, fenolik/flavonoid dan saponin dengan Kromatografi Lapis Tips (KLT), Saifudin (2014) mengungkapkan bahwa kromatografi sangat penting dan fundamental untuk identifikasi, deteksi pemisahan, deteksi optimasi fase gerak, deteksi kemurnian, dan lainnya. Jadi kromatografi adalah metode dasar. Ada dua tipe kromatografi berdasarkan pengepakan fase diam. Yakni kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom. Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah fundamental untuk “mendapatkan visi” terkait metode pemisahan yang akan kita pilih. KLT cenderung bersifat analitis, hanya pekerjaan tertentu untuk isolasi (preparatif). KLT akan memvisualkan senyawa-senyawa yang terkandung di dalam bahan sehingga bisa diketahui sifat-sifatnya terutama polaritas. Sistem yang dipilih fase diam dan fase gerak sebisa mungkin memberikan jumlah bercak sebanyak mungkin. Fase diam seringkali disebut dengan penjerap atau adsorben.

Senyawa alkaloid pada ekstrak Aseton spons *Phyllospongia* sp. Setelah direaksikan pereaksi mayer dan dragendorff masing-masing pereaksi ini membentuk senyawa alkaloid yang di tandai dengan adanya warna/endapan putih pada pereaksi mayer dan wana putih coklat pada reaksi wagner, tetapi pada pereaksi dragendorff tidak adanya endapan pada plat kromatografi lapis tipis (KLT) sehingga senyawa alkaloid yang terdapat pada ekstrak spons *Phyllospongia* sp. tidak memiliki atau sedikit memiliki senyawa alkaloid., sesuai dengan pernyataan Susanty, (2014) penelitiannya yang meyakini, bahwa pada uji dragendorff tidak menyebabkan terbentuknya endapan jingga diduga tidak memiliki atau mungkin sedikit memiliki senyawa alkaloid dimana nitrogen tidak digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam sehingga terbentuk endapan jingga.

Hasil pengujian juga menunjukkan bahwa Pada ekstrak spons *Phyllospongia* sp. mengandung senyawa steroid/terpenoid setelah direaksikan dengan pereaksi Liberman Buchard yang ditandai dengan adanya warna coklat dan merah pada senyawa terpenoid dan berwarna biru atau hijau pada senyawa steroid, hal ini sesuai pernyataan Lantah, *dkk.*, (2017) bahwa Sampel positif mengandung triterpenoid apabila mengalami perubahan warna merah atau coklat dan positif mengandung steroid apabila mengalami perubahan warna biru, ungu atau hijau.

Gambar 1. Hasil pengujian senyawa metabolit sekunder secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp.

Tabel 2. Hasil pengukuran Uji daya hambat antibakteri ekstrak spons *Phyllospongia* sp. terhadap bakteri *S. aureus*

Ekstrak	Konsentrasi	Diameter daya hambat (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
Perairan Terbuka	DMSO	0	Tidak ada
	Koramfenikol	24.2	Kuat
	200 ppm	10.2	Kuat
	100 ppm	6.3	Lemah
	50ppm	5.2	Lemah
	25 ppm	3.7	Lemah
Perairan Tertutup	DMSO	0	Tidak ada
	Kloramfenikol	24.3	Kuat
	200 ppm	12.8	Kuat
	100 ppm	8.8	Lemah
	50 ppm	6.2	Lemah
	25 ppm	4.7	Lemah

Hasil pengujian senyawa fenolik/flavonoid pada ekstrak Aston spons *Phyllospongia* sp. juga menunjukkan positif mengandung senyawa fenolik/flavonoid hal ini karena adanya noda yang muncul berwarna biru pada plat kromatografi lapis tipis setelah direaksikan dengan pereaksi FeCl₃. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dwi, dkk (2005), bahwa flavonoid adalah turunan senyawa fenolat, sehingga untuk identifikasi awal dapat digunakan pereaksi FeCl₃. Pereaksi FeCl₃ bereaksi dengan ion fenolat membentuk ion kompleks [Fe(Oar)₃]. Test fenolat memberikan hasil positif jika setelah beberapa saat sehingga terbentuk warna hijau, merah, ungu.

Pengujian senyawa saponin pada ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp. positif mengandung senyawa saponin karena terdapat busa yang stabil tahan setelah didiamkan selama ± 5 menit, buih yang terdapat pada uji saponin masih stabil, hal ini sesuai menurut Puspriani (2007) yang menerangkan bahwa buih dapat terbentuk karena saponin mempunyai sifat yang dapat menurunkan tegangan permukaan air. Seperti halnya sabun, saponin mempunyai molekul besar yang mengandung gugus hidrofilik dan lipofili. Saponin yang terkandung dalam air dapat mensejajarkan diri secara vertikal pada permukaannya, dengan gugus lipofilik yang menjauhi air.

Pada hasil uji profil kandungan metabolit sekunder ekstrak aseton spons dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) ditemukan beberapa noda diantaranya terdapat 4 yang ada pada

perairan terbuka dan 5 noda pada perairan tertutup. Noda yang nampak pada hasil uji KLT antara perairan terbuka lebih sedikit jika dibandingkan dengan hasil KLT ekstrak aseton spons di perairan tertutup. Karena diindikasikan atau diduga bahwa noda yang terlihat pada plat uji KLT pada perairan tertutup tersebut ini dikarenakan pada perairan tertutup kondisi lingkungannya yang cukup ekstrim seperti kurangnya penetrasi cahaya yang sampai ke dasar perairan, total suspensi solid yang tinggi dan kurangnya sirkulasi arus yang berada di perairan tertutup, dimana jauh berbeda pada daerah perairan terbuka dimana tingkat pencahayaan yang tinggi arus sirkulasi air yang bagus. Hal ini sesuai pernyataan Harper *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa tingkat keragaman senyawa bioaktif hewan laut dipengaruhi oleh perbedaan lingkungan laut seperti salinitas, intensitas cahaya, arus dan kompetisi dengan organisme lainnya.

Hal ini diperkuat dengan pernyataan Akhila, (2007) bahwa faktor lingkungan yang mempengaruhi stabilitas bahan aktif yaitu suhu, penetrasi cahaya dan kondisi biotik. Kondisi lingkungan yang buruk berpengaruh terhadap produksi metabolit sekunder pada organisme. Pada kondisi lingkungan yang buruk spons akan mengeluarkan metabolit sekundernya untuk bertahan hidup.

Pengujian Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan dengan melihat diameter zona hambat yang terbentuk disekitaran cakram

ekstrak aseton spons dan diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm). Pengamatan uji aktivitas antibakteri oleh ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp. terhadap dua bakteri uji yaitu *S. typhi* dan *S. aureus*. yaitu aktivitas antibakteri terbentuk zona hambat dari setiap konsentrasi ekstrak *Phyllospongia* sp. yang diberikan yang diambil dari perairan terbuka maupun tertutup sangatlah mencolok. Diketahui dari Tabel 4 bahwa terdapat mekanisme aktivitas antibakteri memiliki beberapa zona hambat lebih dari 10 mm atau bahkan kurang dari 5 mm. menurut Sahidin (2018) bahwa komponen zona hambat dan control positif dikategorikan kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm) dan lemah (<5 mm).

Hasil pengamatan pada bakteri *S. aureus* ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp. yang diambil pada perairan terbuka dengan konsentrasi 200 ppm yang dikategorikan kuat sedangkan dengan konsentrasi 25 ppm dikategorikan lemah dan pada perairan yang tertutup dengan konsentrasi 200 ppm dikategorikan kuat sedangkan konsentrasi 25 ppm juga dikategorikan lemah. Menurut Jawet (1998) menerangkan bahwa, perbedaan kesensitifan bakteri gram positif dan gram negatif berkaitan dengan struktur dalam dinding selnya, seperti jumlah peptidoglikan (adanya reseptor, poro-pori, dan lipid), sifat ikatan silang dan aktivitas enzim autohtik. Komponen tersebut merupakan faktor yang menentukan penetrasi, pengikatan, dan aktivitas senyawa antimikroba.

Pada bakteri *S. Typhi* ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp. yang diambil pada

perairan terbuka dengan konsentrasi 200 ppm dikategorikan lemah sedangkan pada konsentrasi 25 ppm dikategorikan tidak ada aktivitas dan pada perairan tertutup dengan konsentrasi 200 ppm dikategorikan lemah sedangkan pada konsentrasi 25 ppm dikategorikan lemah. Dari hasil pengamatan uji daya hambat pada bakteri *S. Typhi* berbeda dengan aktivitas daya hambat dari bakteri *S. aureus* karena adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua bakteri tersebut. Menurut Stecher dan Johnson (2003) menerangkan bahwa karakteristik bakteri kelompok gram negatif memiliki pembatas permeabilitas tambahan yang terdapat dari struktur membrane luar. Dinding sel bakteri gram negative lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri gram positif. Perbedaan utama terletak adanya lapisan peptidoglikan pada lapisan membran luar sel bakteri gram negative. Lapisan inilah yang berperan sebagai barrier.

Hasil pengamatan control positif (kloramfenikol) daya hambat kedua bakteri masih lebih besar dari pada ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp. Kloramfenikol bekerja melalui penghambatan sintesis protein sehingga menghambat translasi dan transkripsi material genetik. Mekanisme penghambatan kloramfenikol dengan cara mengganggu pelekatan asam amino pada rantai peptida yang baru pada subunit 50S ribosom, dengan mengganggu daya kerja peptidil transferase. Akibatnya proses perbanyakan dan pembelahan sel terganggu (Jawet 1998).

Tabel 3. Hasil Uji daya hambat antibakteri ekstrak spons *Phyllospongia* sp. terhadap bakteri *S. typhi*

Ekstrak	Konsentrasi	Diameter daya hambat (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
Perairan Terbuka	DMSO	0	Tidak ada
	Koramfenikol	22.2	Kuat
	200 ppm	0.5	Tidak ada
	100 ppm	0.2	Tidak ada
	50ppm	0.2	Tidak ada
	25 ppm	0	Tidak ada
Perairan Tertutup	DMSO	0	Tidak ada
	Kloramfenikol	24.8	Kuat
	200 ppm	1.8	Lemah
	100 ppm	1.3	Lemah
	50 ppm	1.3	Lemah
	25 ppm	1.0	Lemah

Tabel 4. Parameter lingkungan perairan sebagai indikator kualitas perairan

No	Parameter lingkungan	Hasil pengukuran		Baku mutu*
		Terbuka	Tertutup	
Fisika				
1	Suhu (oC)	32	30	28-32
2	kecerahan (%)	100	100	>5
3	kecepatan arus (m/detik)	0.7	0.11	-
4	TSS (mg/l)	2.42	4.2	20
Kimia				
5	Salinitas	34	32	33-34
6	DO (mg/l)	6.2	5.8	>5
7	pH	7	7	7-8,5

Pada pengamatan kualitas perairan yaitu parameter fisika-kimia pada perairan terbuka dan tertutup, pengukuran parameter perairan dilakukan untuk mewakili data kondisi lingkungan. Hasil pengukuran beberapa pengukuran parameter fisika dan kimia perairan tersebut masih berada pada kisaran ambang batas baku mutu air laut untuk mendukung kehidupan biota yang telah ditetapkan oleh Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No.51 Tahun 2004. Aturan ini menerangkan bahwa baku mutu air laut adalah ukuran batas atau kadar makhluk hidup, zat, energi atau komponen yang ada atau harus ada dan atau pencemaran yang ditenggang keberadaannya di dalam air laut.

Hasil pengukuran (Tabel 6) diketahui bahwa suhu di tempat pengambilan sampel karang lunak *Sarcophyton* sp. memiliki nilai dengan kisaran 32°C pada perairan terbuka dan 30 °C pada perairan tertutup. Kisaran suhu yang diperoleh dari penelitian ini masih dalam kisaran suhu yang baik untuk pertumbuhan karang. Kisaran suhu dapat mendukung pertumbuhan optimum. Arus sebagai salah satu parameter fisik yang diukur memiliki peranan dalam pemindahan nutrisi, larva, dan sedimen. Arus pada lokasi penelitian berkisar antara 0,07 m/s pada perairan terbuka dan -0,11 m/s pada perairan tertutup

Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa : Senyawa metabolit sekunder ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp. pada perairan terbuka teridentifikasi senyawa Alkaloid Steroid/Terpenoid, Fenolik/Flavanoid serta saponin dan pada perairan tertutup yaitu

Alkaloid Steroid/Terpenoid, Fenolik dan saponin. Aktivitas antibakteri ekstrak aseton spons *Phyllospongia* sp. pada perairan terbuka dikategorikan lemah terhadap bakteri *S. typhi* sedangkan ekstrak eseton spons *Phyllospongia* sp. pada perairan tertutup dikategorikan kuat terhadap bakteri *S. aureus* . Secara umum ekstrak spons *Phyllospongia* sp. memiliki aktifitas data hambat terhadap bakteri *S. Aureus*.

Daftar Pustaka

- Asro M. Yunaini dan Halili. 2013. Pertumbuhan Spons (*Stylotella aurantium*) yang Ditransplantasi pada Berbagai Kedalaman. Jurnal Mina Laut Indonesia. 1(1):133-144
- Dwi K.N, Sabirin M dan Tutik D. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temuireng (*Curcuma Aeruginosaroxb.*) *Biofarmasi*. 3(1):32-38
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan perairan. Kanisius, Yogyakarta.
- Harper MK, Bugni TS, Copp BR, James JD, Lindsay BS, Richardson AD, Schnabel PC, Tasdemir D, Van Wagoner FM, Verbitski SM, Ireland CM. 2001. Introduction to the chemical ecology of marine natural products. Di dalam : McClintock JB, Baker BJ, editor. *Marine Chemical Ecology*. USA: CRC Press.
- Ibrahim J. 2017. Tingkat Cemarkan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Daging Ayam Yang Dijual Di Pasar Tradisional Makassar. Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed ke-20. Nugroho E, Maulany RF, penerjemah. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Lantah P.L, Lita A.D.Y.M, Dan Alber R.R. 2017. Kandungan Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut *Kappaphycus Alvarezii* . Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan. 5(3): 167-173
- Marraskuranto E. 2010. Kajian Bioprospeksi Spons Laut Asal Taman Nasional Kepulauan Wakatobi dan Implikasi Pengelolaannya. Thesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Naidu AS. 2002. *Natural Food Antimicrobial System*. USA: CRC Press.
- Permata. N. Y. 2015. Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp. Pada Makanan Jajanan Si Mesjid Fathullah Ciputat. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pronzato, R., Bavestrello, G., Cerrano C., Magnino, G., Manconi, R., Pantelis, J., Sara, A. & Sidri, M. 1999. Sponge Farming in the Mediterranean Sea: New Perspectives. *Memoir of the Queensland Museum* 44: 485 – 491.
- Rachmaniar. 2005. Penelitian Produk Alam Laut Skrening Substansi Bioaktif . Jakarta : Puslitbang Oseanologi LIPI. Hal 1-16
- Rasyid A. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus Hermanii*. Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis. 4(2):360-368
- Sahidin, I. Sabandar C, W., Wahyuni Hamsidi R, Malaka H, M, Sadarun B, Aslan L, O. 2018. A-norSteroids from the marine sponge, clathria Species. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 22(3):375-382.
- Saifudin A. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder (*Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*). Deepublish. (7):54. ISBN 978-602-280-472-7.
- Sinaga E L R, Muhtadi A, Bakti D. 2016. Profil Suhu, Oksigen Terlarut, dan pH Secara Vertikal Selama 24 Jam di Danau Kelapa Gading Kabupaten Asahan Sumatera Utara. *Omni-Akuatika* 12(2): 114-124.
- Subagio IB, dan Aunurohim A. 2013. Struktur Komunitas Spons Laut (Porifera) di Pantai Pasir Putih, Situbondo. 2(2) : 159-165. *Jurnal Sains dan Seni ITS*.
- Suhita A.D. 2010. Respon Stres Pada Spons Dan Potensi Aplikasinya Sebagai Biomonitor Polutan Pada Ekosistem Terumbu Karang. *Jurnal Squalen*. 5(3) : 92-100
- Suharyanto. 2008. Distribusi dan Persentase Tutupan Sponge (Porifera) pada Kondisi Terumbu Karang dan Kedalaman yang Berbeda di Perairan Pulau Barranglompo, Sulawesi Selatan. *Jurnal Biodiversitas*. 9(3):209-212
- Sumaryono, W., Widodo, A.E., dan Chaidir. 2005. Isolasi dan elusidasi struktursenyawa dari sponge *Axynissa aplysinoides*. *Majalah Farmasi*. 16(4): 186–191.
- Soeid M. 2017. Kemampuan Biofilter Sponge *Class Demospongiae* Dengan Berbagai Bentuk Pertumbuhan Terhadap Kekeruhan Dan *Total Suspended Solid*. Skripsi
- Suriani, Usman H., Ahmad A., 2012. Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Dari Spons *Callyspongia* sp. *Jurnal Marina Chimica Acta*. Vol 12 [1] : Hal 2-7.
- Susanty E,S. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea Decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy* . 11(1)98-107.
- Warsidah dan Kartika E. 2013. Pengujian Aktivitas Sitotoksik dan Penentuan Spesies Bakteri Simbion Spons *Haliclona* sp. *Jurnal Marina Chimica Acta*. 14(1):30-38
- Winarno FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka.
- Yanita dan Cita P. 2011. Bakteri *Salmonella Typhi* Dan demam Tifoid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 6(1):42-46
- Yulianti R., Rante H., Alam G., dan Tahir A. 2011. Skrining Dan Analisis Klt-Bioautografi Senyawa Antimikroba Beberapa Ekstrak Spons Asal Perairan Laut Pulau Barrang Lompo, Sulawesi Selatan. *Jurnal Majalah Obat Tradisional*. 16(2):88-94

- Zuhud EAM, Rahayu WP, Wijaya CH, Sari PP.2001. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia raxburghii* G. Dom) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi dan Industri* 12(1):6-12
- Zoblotowics RM, Hoogland RE, Wagner SC. 2002. Effect of saponin on the growth and activity of Rhizosphere bacteria. Di dalam: Naidu AS, editor. *Natural Food Antimicrobial Systems*. USA: CRC Pres