

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIBAKTERI METABOLIT BAKTERI YANG BERASOSIASI SPONS LAUT (*Agelas oroides*)

Risna¹, Rismayanti Fauziah², Natsir Djide^{3,4}, Subehan³

¹STIKES Jayapura

²Universitas Mandala Waluya

³Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

⁴Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu kelompok biota laut yang terdapat di perairan Indonesia dengan jumlah 850 spesies dan berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat bioaktif. Kemajuan penelitian melaporkan bahwa banyak produk alami bioaktif dari invertebrata laut telah memiliki kesamaan dengan metabolit mikroorganisme yang berasosiasi termasuk bakteri, dengan demikian penting untuk mengeksplorasi kemungkinan peran bakteri laut yang bersimbion pada spons dalam memberikan solusi untuk masalah infeksi oleh patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas antibakteri dari bakteri asosiasi spons terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta karakterisasi senyawa bioaktifnya berdasarkan data spektrofotometri UV-Vis dan IR. Isolasi bakteri asosiasi spons laut dilakukan dengan metode agar tuang pada marine agar selanjutnya dilakukan pemurnian dan uji antagonis untuk mengetahui isolate yang paling potensial terhadap bakteri uji. Isolat terpilih selanjutnya dilakukan fermentasi dan ekstraksi lalu dilanjutkan dengan uji aktivitas antimikroba ekstrak isolat bakteri. Langkah selanjutnya dilakukan isolasi senyawa, uji kemurnian dan karakterisasi senyawa yang diperoleh. Hasil isolasi bakteri asosiasi spons laut diperoleh sebanyak 5 isolat dengan Kode BSS-1, BSS-2, BSS-3, BSS-4 dan BSS-5. Hasil pengujian antagonis diperoleh isolate BSS 2 memiliki daya hambat terhadap bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* yang selanjutnya dilakukan fermentasi terhadap ekstrak tersebut. Ekstrak etil asetat isolat bakteri BSS-2 dengan konsentrasi 1% dan 2% mampu menghambat bakteri uji *S. aureus* dengan diameter hambatan masing-masing sebesar 10,86 mm dan 14,28 mm sedangkan aktivitas terhadap bakteri uji *E. coli* pada konsentrasi 1% dan 2% memiliki diameter hambatan sebesar 9,96 mm dan 12,65 mm. Berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan FTIR, senyawa yang diperoleh dari ekstrak etil asetat isolat BSS-2 memiliki panjang gelombang 271 nm dan memiliki gugus fungsi C-N dan N-H pada bilangan gelombang 3443,05 dan 1082,10. Hasil karakterisasi tersebut diduga bahwa senyawa ekstrak etil asetat isolate BSS-2 merupakan senyawa alkaloid. Hal ini diperkuat oleh hasil karakterisasi menggunakan pereaksi dragendorff diindikasikan senyawa alkaloid.

Kata Kunci :

spons *Agelas oroides*,
isolasi, antibakteri

PENDAHULUAN

Penyakit menular merupakan penyebab kematian nomor satu di negara-negara tropis yang menyumbang sekitar setengah dari semua kematian. Selain itu, angka kematian penyakit menular juga meningkat di negara maju. Infeksi yang muncul kembali diperkirakan sebagian besar didorong oleh faktor sosial-ekonomi, lingkungan dan ekologis (1). Penanganan penyakit infeksi biasanya menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan tidak terkontrol telah mengakselerasi timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik (2). Hal tersebut merupakan masalah serius yang penting untuk ditanggulangi. Kecemasan yang muncul dalam penanganan penyakit infeksi akibat resistensi antibiotik mendorong berbagai penelitian dalam eksplorasi senyawa antibiotik yang baru.

Organisme laut, khususnya invertebrata laut dari terumbu karang telah menjadi sumber yang sangat menarik untuk produk kimia bahan alam, karena mereka menghasilkan metabolit dengan aktivitas biologis yang berbeda. Invertebrata laut, yang berlimpah di wilayah Indo-Pasifik termasuk Indonesia, kaya akan metabolit sekunder dan menjadi target untuk terus mencari senyawa

bioaktif (3). Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang *et al.* (2017) terhadap spons jenis *A. oroides* menemukan bahwa spons ini memiliki banyak aktivitas seperti sifat toksisitas terhadap sel kanker payudara dan aktivitas antibakteri.

Spons umumnya dapat bertahan hidup di perairan laut yang miskin nutrisi karena adanya asosiasi dengan organisme lain khususnya bakteri (4). Bakteri dalam bentuk asosiasi dengan spons dapat memberikan kontribusi untuk pertahanan inangnya dengan ekskresi antibiotik dan substansi bioaktif lainnya. Secara khusus organisme laut yang sesil seperti spons diperkirakan sangat bergantung pada mekanisme pertahanan simbiotiknya, yaitu dengan menghasilkan senyawa bioaktif untuk mempertahankan diri terhadap hewan-hewan predator dan dari kolonisasi mikroorganisme patogenik (5). Banyak metabolit yang berasal dari spons dan diduga diproduksi oleh bakteri karena metabolit ini menyerupai produk alami bakteri atau termasuk golongan zat yang tipikal dengan mikroorganisme tersebut, seperti

Masuk 08-11-2021

Revisi 24-10-2022

Diterima 07-12-2022

DOI: 10.20956/mff.v26i3.18632

Korespondensi

Risna

risnapharmacy16@gmail.com

Copyright

© 2022 Majalah Farmasi
Farmakologi Fakultas Farmasi -
Makassar

Diterbitkan tanggal

30 Desember 2022

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



poliketida kompleks atau peptide nonribosomal (3). Jenis senyawa metabolit sekunder dari bakteri yang bersimbiosis dengan spons sangat bervariasi yaitu dari golongan terpenoid, alkaloid, polyketida, peptidasiklik, derivat dari asam lemak dengan berat molekul kecil, heterosklik, hingga *brominated pyrroles* (5).

Pencarian senyawa bioaktif kini diarahkan ke komunitas mikroorganisme pada jaringan spons sebagai simbiosis. Mikroorganisme laut telah memberi kontribusi pada sebagian besar senyawa bioaktif. Mereka dapat menghasilkan senyawa metabolit yang sama seperti inangnya (6). Bakteri mampu berkembang lebih cepat sehingga senyawa bioaktif bisa diproduksi dengan lebih mudah, cepat dan banyak dalam skala bioteknologi dari pada mengkultur sponge itu sendiri (7).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons laut (*A. oroides*) dan uji aktivitas antibakteri isolat hasil pemurnian serta karakterisasi senyawa yang dihasilkan oleh isolat bakteri asosiasi *A. oroides*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: autoklaf, cawan petri, cawan porselen, labu Erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, inkubator, jangka sorong, jarum ose bulat, *Laminar Air Flow*, lampu spiritus, lampu UV 254 dan 366 nm, mikro pipet, oven, spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu), spektrofotometri infra merah (Shimadzu), tabung reaksi, timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: akuades, bakteri *S. aureus* ATCC 25922, bakteri *E. coli* ATCC 25922, etil asetat, kapas, kasa steril, *paper disk* (Oxoid®), medium marine agar (Merck), medium NA (*Nutrient Agar*) (Merck), medium produksi, medium MHA (*Muller Hinton Agar*) (Merck), medium MYB (*Maltose Yeast Broth*) (Merck), pereaksi Dragendorf, Plat KLT dan spons laut *A. oroides* dari perairan Laut Barru, Sulawesi Selatan.

Prosedur Kerja

Isolasi Bakteri Symbion dari Sampel Spons

Permukaan sampel spons dibilas dengan air laut steril, sehingga hanya bakteri dengan simbiosis yang kuat yang akan terambil (8). Sebanyak 1 g sampel yang telah digerus disuspensikan ke dalam 9 ml air laut steril, dikocok hingga homogen dan diperoleh pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} dan 10^{-4} . Pada masing-masing pengenceran dipipet sebanyak 0.1 ml secara aseptik dan dibebar ke cawan petri yang telah berisi medium marine agar, kemudian diinkubasi pada suhu 26°C selama 24 jam dan diamati pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh pada media tersebut (4). Koloni bakteri yang sudah tumbuh dipisahkan berdasarkan warna, bentuk, tepi dan elevasi koloni. Isolat yang dipisahkan diinkubasi pada suhu ruangan selama 1 x 24 jam.

Pengujian Antagonis

Pengujian antagonis dilakukan untuk melihat aktifitas bakteri terhadap mikroorganisme uji *E. coli* dan *S. aureus* pada medium NA (*Nutrient Agar*). Selanjutnya, isolat bakteri dimasukkan kedalam cawan petri dengan cara menempelkan potongan medium yang ditumbuhi isolat bakteri simbiosis pada permukaan media kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar daerah goresan bakteri uji.

Fermentasi, Ekstraksi dan Uji Aktivitas

Koleksi isolat bakteri simbiosis yang telah diperoleh selanjutnya dibuat prekultur/ starter dalam 15 mL medium MYB yang diinkubasi selama 24 jam sesekali digoyang. Selanjutnya starter

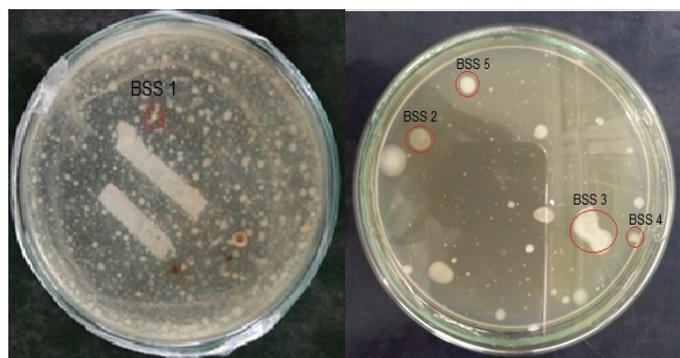
difermentasikan ke dalam 300 mL medium produksi menggunakan labu Erlenmeyer 500 ml, diinkubasi selama 6 hari pada suhu 37°C dikocok dengan bantuan shaker dengan kecepatan 150 rpm. Setelah fermentasi selama 6 hari, media pertumbuhan bakteri disonikasi lalu disaring untuk memisahkan biomasa dan cairan fermentasi. Cairan fermentasi diekstraksi dengan pelarut etil asetat (1:1) dalam corong pisah selama 20 menit. Ekstrak yang diperoleh disimpan pada desikator untuk digunakan pada uji selanjutnya.

Aktivitas antibakteri ditentukan dengan melihat kemampuan daya hambat metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis menggunakan metode difusi agar. Ekstrak etil asetat yang diperoleh dibuat konsentrasi 1 dan 2 % menggunakan pelarut etil asetat. Sebanyak 20 µL ekstrak etil asetat diteteskan pada paperdisk. Setelah pelarut menguap, paper disk diletakkan secara aseptik diatas permukaan medium MHA yang telah diinokulasikan bakteri uji. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri (9). Pada setiap media uji terdapat kontrol positif yaitu antibiotik amoksisilin serta kontrol negatif yaitu pelarut etil asetat. Adanya aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram steril setelah masa inkubasi dan diukur diameter zona hambatannya dengan menggunakan jangka sorong.

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif

Ekstrak diambil secukupnya kemudian dilarutkan dalam 1 ml etil asetat. Ekstrak tersebut kemudian ditotolkan pada plat KLT berukuran 1 X 6 cm dengan pipa kapiler. Plat KLT kemudian dielus dengan etil asetat:metanol (3:1) dalam chamber KLT sehingga eluen mencapai batas atas dari plat KLT (10). Berdasarkan hasil penyinaran lampu UV 254 dan 366 diperoleh 2 pita senyawa pada plat KLT hasil elusi. Pemilihan noda yang akan dikarakterisasi berdasarkan pada pita yang paling dominan dan pita yang menunjukkan hasil positif berdasarkan pereaksi penampak bercak. Isolasi senyawa dilakukan dengan metode KLT Preparatif. Setelah terelusi, pita terpilih ditandai dan dikeruk dan dilarutkan dengan methanol p.a kemudian disaring. Fraksi yang diperoleh ditotol kembali pada lempeng KLT dengan eluen etil asetat:metanol (3:1). Karakterisasi isolat senyawa bakteri simbiosis dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan alat FTIR untuk diukur bilangan gelombangnya untuk menentukan gugus fungsi.

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Hasil isolasi awal menggunakan metode tuang pada medium *Marine agar*.

Sampel spons yang digunakan dalam penelitian ini adalah dari spesies *Agelas oroides* yang berasal dari perairan laut di sekitar pulau Bakki, Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan pada titik koordinat 4°8'34.000"LS, 119°36'22.000"BT. Isolasi bakteri simbiosis spons menggunakan metode tuang dengan variasi pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-4} menghasilkan lima isolat awal bakteri simbiosis yaitu BSS 1, BSS 2, BSS 3, BSS 4, BSS 5. Kelima isolat bakteri tersebut dipisahkan berdasarkan pada karakter morfologi koloni bakteri meliputi warna, bentuk, tepi, dan elevasi

koloninya. Hasil isolasi bakteri yang diperoleh seperti yang ditunjukkan pada tabel 1 memiliki karakter morfologi dengan warna yang bervariasi yaitu putih, kuning, orange hingga coklat. Adapun bentuk koloni umumnya bulat dan tak beraturan dengan tepi rata serta elevasi koloni cembung. Hasil isolasi dapat dilihat pada (gambar 1). Morfologi koloni bakteri yang diperoleh sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pahriyani et al. (2020) ditemukan isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons laut memiliki karakter morfologi dengan warna orange, kuning dan putih, dengan bentuk koloni bundar, tepi koloni livin, tak beraturan dan berlekuk dengan elevasi koloni cembung. Berdasarkan hasil isolasi yang diperoleh membuktikan bahwa spons merupakan habitat bagi banyak mikroorganisme termasuk bakteri. Mikroba dapat sebagai sumber makanan bagi spons. Bagi mikroba, spons merupakan tempat berlindung dari predator, sebagai substrat untuk kolonisasi, akses ke sinar matahari untuk fotosintesis dan pasokan nutrisi. (5) Metabolit aktif yang diproduksi mikroba diyakini memiliki hubungan simbiosis mutualisme dengan spons(11)

Tabel 1. Karakter morfologi koloni isolat bakteri simbiosis spons

No	Kode Isolat	Warna Koloni	Bentuk	Tepi	Elevasi
1.	BSS 1	Jingga	bulat	rata	cembung
2.	BSS 2	coklat muda	bulat	rata	datar
3.	BSS 3	putih pucat	irregular	berlekuk	datar
4.	BSS 4	kuning muda	bulat	rata	cembung
5.	BSS 5	putih susu	bulat	rata	cembung

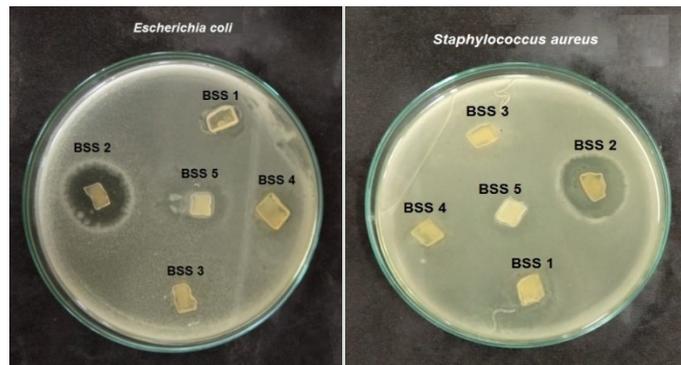
Pemurnian dilakukan dengan cara menggores isolat ke cawan petri berisi medium Marine agar baru hingga diperoleh koloni tunggal. Koloni tunggal selanjutnya diinokulasikan pada medium *Marine Agar* miring sebagai stok untuk pengujian selanjutnya. Kelima isolat yang diperoleh dilakukan uji antagonis untuk melihat aktivitas isolat bakteri simbiosis langsung terhadap bakteri uji, sehingga dapat dilakukan seleksi terhadap isolat yang memiliki aktivitas antibakteri. Hasil pengujian antagonis menunjukkan isolat BSS-2 memiliki aktivitas penghambatan yang besar terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Isolat BSS-1, BSS-4 dan BSS-5 juga menunjukkan aktivitas terhadap kedua bakteri uji namun hanya memiliki diameter penghambatan yang kecil. Pada isolat BSS-3, tidak memiliki aktivitas penghambatan baik terhadap bakteri *S. aureus* maupun *E. coli*. Hasil pengujian antagonis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji antagonis isolat bakteri simbiosis spons terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Salah satu bentuk respon yang ditunjukkan bakteri adalah pembentukan senyawa metabolit sebagai bentuk pertahanan melawan bakteri lain dan menghindari senyawa toksik yang memiliki potensi bahaya terhadap bakteri tersebut (12). Adapun hasil diameter penghambatan yang kecil pada isolat BSS-1, BSS-4 dan BSS-5 kemungkinan disebabkan karena metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat tersebut pada masih sedikit, sehingga tidak memberikan daya hambat yang maksimal terhadap bakteri uji (12). Ada beberapa dugaan mengapa isolat bakteri BSS-3 tidak menghasilkan senyawa antibakteri. Pertama, bakteri tersebut

menghasilkan senyawa antibakteri namun tidak bersifat aktif terhadap bakteri uji. Kedua, bakteri menghasilkan senyawa antibakteri secara intraseluler sehingga senyawa yang dihasilkan tidak terekresi dan terakumulasi di media tumbuh (12).



Gambar 3. Uji difusi ekstrak etil asetat isolat BSS-2 dengan konsentrasi ekstrak 1%, 2%, kontrol positif amoksisilin dan kontrol negatif etil asetat.

Isolat bakteri yang memiliki aktivitas penghambatan tertinggi pada uji antagonis selanjutnya dilakukan fermentasi. Fermentasi isolat BSS 2 dilakukan dengan fermentasi cair menggunakan media MYB untuk starter dan medium produksi yang terdiri dari sukrosa, pati terlarut, dekstrosa sebagai sumber carbon, tepung kedelai dan ekstrak ragi sebagai sumber nitrogen dan NaCl. Hasil fermentasi selanjutnya diekstraksi dengan metode cair-cair menggunakan pelarut etil asetat. Bobot ekstrak etil asetat isolat BSS 2 diperoleh sebanyak 251,4 mg. Aktivitas senyawa antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan paper disk. Bakteri uji yang digunakan adalah *S. aureus* dan *E. coli* dengan variasi konsentrasi ekstrak 2% dan 1% serta menggunakan kontrol positif paper disk yang berisi amoksisilin dan kontrol negatif yaitu etil asetat. Hasil pengujian ekstrak etil asetat isolat BSS-2 terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan adanya hambatan, baik pada konsentrasi ekstrak 1% maupun 2%. Aktivitas penghambatan antibakteri ini ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar *paper disk* (13). Hasilnya uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat isolat BSS 2 dapat dilihat pada Gambar 3. Terbentuknya diameter hambatan ini menandakan bahwa pelarut yang digunakan pada ekstraksi mampu menarik senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Hasil pengukuran diameter hambatan ekstrak etil asetat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter daerah hambat ekstrak etil asetat isolat BSS-2 terhadap pertumbuhan bakteri uji

Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (mm)			
	Kontrol +	Kontrol -	Ekstrak 2%	Ekstrak 1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,23	-	14,28	10,86
<i>Escherichia coli</i>	13,41	-	12,65	9,96

Terdapat beberapa perbedaan daya hambat terhadap bakteri uji dan kemampuan penghambatan ekstrak etil asetat isolate BSS-2 lebih besar terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Aktivitas antibakteri dari isolat menunjukkan spektrum antibakteri yang luas, karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri, baik bakteri Gram positif *S. aureus* maupun bakteri gram negatif *E. coli*. Adapun kategori daya hambat pada uji antibakteri menurut Zainuddin (2006), diameter daya hambat 10 mm-15 mm memiliki aktivitas antibakteri yang sedang sehingga dapat disimpulkan bahwa kemampuan daya hambat ekstrak etil asetat isolat BSS-2 termasuk dalam kategori rendah sehingga untuk mendapatkan aktivitas penghambatan yang lebih besar penambahan konsentrasi ekstrak dapat dipertimbangkan.

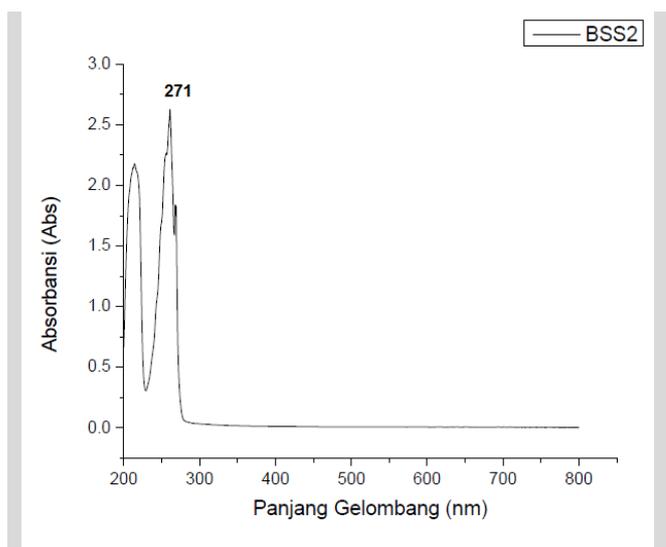
Isolasi senyawa dari ekstrak etil asetat isolat BSS 2 dimulai dengan menganalisis profil kromatogram KLT. Hasil pemantauan profil

KLT terhadap ekstrak etil asetat diperoleh dua bercak pada lampu UV 254 dan penyemprot H₂SO₄ sedangkan hanya satu bercak yang terlihat pada lampu UV 366 dengan nilai Rf sebesar 0,58 dan 0,71. Tahapan isolasi selanjutnya dilakukan dengan KLT preparatif terhadap ekstrak etil asetat menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat : metanol (3:1) dengan nilai Rf 0,71 berdasarkan pada bercak yang paling jelas penampaknya dibawah sinar UV dan bercak yang paling dominan. Hasil KLT Preparatif diperoleh tiga pita. Pemisahan dilakukan dengan mengerok pita dengan nilai RF 0.71 dan dilarutkan dalam methanol p.a. kemudian dipisahkan dengan disaring menggunakan kapas. Isolat yang diperoleh diuapkan dan dilakukan pemantauan profil KLT. Hasil pemantauan profil KLT diperoleh beberapa bercak pada lempeng namun senyawa target lebih dominan. Selain itu dilakukan uji penampak bercak terhadap isolat yang diperoleh untuk mengetahui golongan senyawa hasil isolasi. Kromatogram pemantauan KLT isolat dapat dilihat pada Gambar 4.



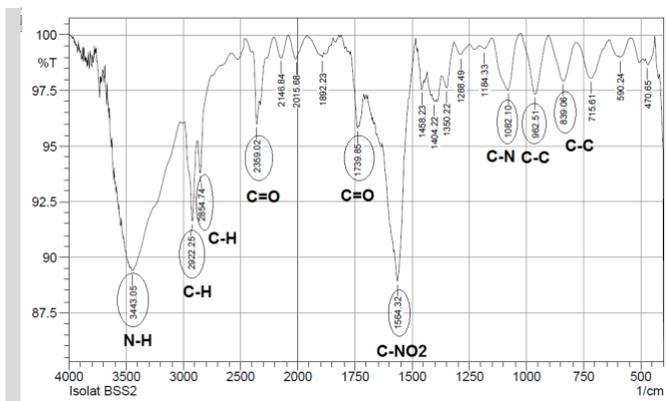
Gambar 4. Kromatogram pemantauan KLT isolat. Visualisasi di bawah lampu UV 254 nm (A), di bawah lampu UV 366 nm (B), pereaksi semprot dragendorf (C), fase diam silika gel GF254, fase gerak etil asetat:etil (3:1).

Senyawa hasil isolasi selanjutnya dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa isolate BSS-2 menunjukkan puncak serapan pada panjang gelombang 271 nm, dengan absorbansi sebesar 0,731. Data spektrum isolat menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR dapat dilihat pada gambar 5 dan 6. Data spektrum inframerah isolat mengandung beberapa gugus fungsi seperti C-C stretching dengan adanya pita dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang 839,06 dan 962,51. Gugus karbonil C=O stretching diindikasikan oleh adanya serapan yang tajam dengan intensitas sedang pada daerah bilangan gelombang 1739,85 dan 2359,02 dengan serapan yang tajam dan intensitas lemah pada daerah bilangan gelombang (1725-2700 cm⁻¹). Adapun gugus C-H terlihat pada bilangan gelombang 2854,74 dan 2922,25 cm⁻¹ dengan intensitas pita yang tajam dan kuat. Adanya gugus C=O dan C-H diduga merupakan suatu aldehyd dimana gugus C=O stretching dari aldehyd alifatik memiliki serapan pada bilangan gelombang antara 1720-1740 cm⁻¹ sedangkan umumnya gugus C-H stretching dari aldehyd memiliki serapan pada bilangan gelombang 2850 - 2690 cm⁻¹ (14).



Gambar 5. Data Spektrum UV-Vis isolat bakteri BSS-2

N-H stretching pada bilangan gelombang 3443,05, terlihat pada bilangan gelombang 3400- 3500 cm⁻¹. Pada bilangan gelombang ini umumnya memperlihatkan konformasi trans dari amida sekunder. Serapan ini didukung oleh munculnya serapan pada bilangan gelombang 1350,22 dan 1082,10 yang mengindikasikan adanya gugus C-N (1020 - 1250) dan C-N stretching oleh amina aromatik sekunder (1280-1350) (15). Kehadiran gugus-gugus ini mengindikasikan adanya suatu senyawa alkaloid. Hal ini didukung oleh uji identifikasi dengan penampak bercak menggunakan pereaksi dragendorf yang menghasilkan warna jingga pada isolat dengan latar belakang kuning yang diindikasikan senyawa alkaloid.



Gambar 6. Data Spektrum FTIR Isolat bakteri BSS-2

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan telah diperoleh 5 isolat bakteri spons laut *A. oroides*. Isolat BSS-2 yang diperoleh mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil karakterisasi menunjukkan senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh isolat bakteri BSS-2 dari spons laut *A. oroides* memiliki gugus fungsi C-C, C-N, C-NO₂, C=O, C-H dan N-H berdasarkan karakterisasi FTIR dan memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 271 nm berdasarkan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa ini diduga merupakan senyawa alkaloid dengan adanya gugus fungsi C-N dan N-H pada bilangan gelombang 3443,05 dan 1082,10, masing-masing. Hasil karakterisasi ini didukung oleh uji penampak bercak menggunakan pereaksi dragendorf yang menghasilkan warna jingga pada isolat yang diindikasikan senyawa alkaloid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas dukungan moril dan sarana selama penulis melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abdelmohsen UR, Pimentel-Elardo SM, Hanora A, Radwan M, Abou-El-Ela SH, Ahmed S, et al. Isolation, phylogenetic analysis and anti-infective activity screening of marine sponge-associated actinomycetes. *Mar Drugs*. 2010;8(3):399–412.
2. Murti PDB, Radjasa OK. Antibacterial Activity of Bacterial Symbiont of Soft. *J Coast Development*. 2012;15(3):297–302.
3. Sabdono a, Radjasa OK. Microbial symbionts in marine sponges: Marine natural product factory. *J Coast Dev*. 2008;11(2):57–61.
4. Abubakar H, Wahyudi AT, Yuhana M. Skrining bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis sp.* sebagai penghasil senyawa antimikroba. *Ijms*. 2012;16(1):35–40.
5. Taylor MW, Radax R, Steger D, Wagner M. Sponge-Associated Microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2007;71(2):295–347.
6. Proksch P, Edrada RA, Ebel R. Drugs from the seas - Current status and microbiological implications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2002;59(2–3):125–34.
7. Rua CPJ, Trindade-Silva AE, Appolinario LR, Venas TM, Garcia GD, Carvalho LS, et al. Diversity and antimicrobial potential of culturable heterotrophic bacteria associated with the endemic marine sponge *Arenosclera brasiliensis*. *PeerJ*. 2014;2014(1):1–14.
8. Armstrong E, Yan L, Boyd KG, Wright PC, Burgess JG. The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. *Hydrobiologia*. 2001;461:37–40.
9. Handayani D, Putra R, Ismed F. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Bakteri *Bacillus sp.3 (A1)* yang Bersimbiosis dengan Spon Laut *Haliclona fascigera*. *J Sains Farm Klin*. 2017;4(1):24.
10. Mohan G, Thangappanpillai AK, Ramasamy B. Antimicrobial activities of secondary metabolites and phylogenetic study of sponge endosymbiotic bacteria, *Bacillus sp.* at Agatti Island, Lakshadweep Archipelago. *Biotechnol Reports [Internet]*. 2016;11:44–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2016.06.001>
11. Judianti OWD, Fiqri MM, Trimulyono G, Ketintang J. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Demospongiae dari Pantai Paciran Lamongan. *Sains Mat*. 2014;2(2):49–53.
12. Nofiani, Risa; Nurbetty, Siti; Sapar A. ©Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, FPIK-IPB 33. *Allmu dan Teknol Kelaut Trop*. 2009;1(2):33–41.
13. Restuati M, Gultom ES. Uji Potensi Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Asal Pulau Ngge (Sibolga) sebagai Sumber Antibakteri. *J Saintika*. 2012;12(2):98–104.
14. Khairuddin K, Taebe B, Risna R, Rahim A. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol Klika Faloak (*Sterculia populifolia*). *ad-Dawaa' J Pharm Sci*. 2018;1(2):62–70.
15. Pramita D, Harlia, Sayekti E. Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum (*Polygonum minus Huds*). *J Kim Khatulistiwa [Internet]*. 2013;2(3):142–7. Available from: <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmpa/article/view/3975/3980>

Sitasi artikel ini: Risna¹, Rismayanti Fauziah², Natsir Djide^{3,4}, Subehan³. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Antibakteri Metabolit Bakteri yang Berasosiasi Spons Laut (*Agelas oroides*). *MFF 2022;26(3):96-100*