



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN KARAKTERISASI METABOLIT
SEKUNDER FRAKSI ETIL ASETAT SPONS *Haliclona* sp.**

ASAL PULAU LEMUKUTAN

**Luthfi Imam Sulisty*^{*}, Ajuk Sapar, Rudiyanasyah, Ari
Widiyantoro, Puji Ardiningsih, Millenia**

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam, Universitas Tanjungpura, Indonesia,

*Korespondensi: e-mail: luthfiimamsulistyo@gmail.com

Abstrak

*Spons Haliclona sp. termasuk ke dalam kelas Demospongiae yang memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, terpenoid, fenolik, dan steroid. Metabolit sekunder tersebut dapat berperan sebagai antibakteri, antikanker, antiinflamasi, dan antivirus. Tujuan penelitian ini adalah mengarakterisasi metabolit sekunder dan menguji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumuran. Hasil interpretasi FTIR pada isolat menunjukkan adanya serapan gugus O-H melebar ($3448,72\text{ cm}^{-1}$), =C-H ($3016,67\text{ cm}^{-1}$), C-H alifatik ($2927,94\text{ cm}^{-1}$), C-O alkohol ($1118,71\text{ cm}^{-1}$); C=C olefin ($1631,78\text{ cm}^{-1}$) C-X halogen ($617,22-410,84$). Kehadiran gugus-gugus fungsi tersebut dan hasil uji fitokimia dapat diduga bahwa isolat merupakan senyawa olefin dari kelompok terpenoid. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etil asetat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi $50\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan $25\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ masing-masing menunjukkan kapasitas kuat dalam menghambat bakteri, sedangkan pada konsentrasi $12,5\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ terindikasi lemah; dan $6,25\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{L}$ tidak menunjukkan aktivitas dalam menghambat bakteri *S. aureus*. Hasil uji fitokimia fraksi etil asetat memberikan respon positif untuk senyawa terpenoid dan alkaloid.*

Kata kunci: *Spons Haliclona sp., Antibakteri, Staphylococcus aureus*

Doi: <https://doi.org/10.29103/jtku.v13i1.15596>

1. Pendahuluan

Spons termasuk filum Porifera yang hidup pada ekosistem perairan, dimana sebagian besarnya pada substrat keras dan menetap pada perairan hingga

kedalaman laut 8.800 meter. Sebagian besar makanan dari spons berupa plankton (umumnya bakteri) dan materi organik yang tidak larut. Terdapat lebih dari 8.500 spesies berbeda di lautan (Schories dan Kohlberg, 2016). Spons laut memiliki potensi sebagai sumber senyawa baru dengan beberapa aktivitas biologi (Amraoui, *et al.*, 2015). Beberapa aktivitas biologi tersebut meliputi antikanker, antimalaria, antiviral, antiinflamasi (Sipkema *et al.*, 2005), antibakteri, antioksidan, antijamur, dan penghambat AIDS (Shushizadeh *et al.*, 2018).

Spons dari kelas Demospongiae telah diteliti secara luas terhadap kelimpahan metabolit sekunder yang meliputi steroid, alkaloid, siklik peptida, terpenoid, dan asam lemak tak jenuh yang bersifat sitotoksik (Putra dan Hadi, 2017). Salah satu spons yang termasuk dalam kelas Demospongiae adalah genus *Haliclona* yang ditemukan di perairan Papua bersifat sitotoksik terhadap sel kanker *colon* dengan MIC 2,25 µg/mL sehingga dapat berpotensi sebagai obat kanker. Selain itu *Haliclona* sp. di perairan Flores bersifat antibakteri terhadap *Mycobacterium smegmatis* dengan nilai MIC 2,5 µg/mL. Kandungan metabolit sekunder dari spons *Haliclona* sp. berupa senyawa golongan alkaloid dan steroid yang memiliki aktivitas sitotoksik berdasarkan nilai LC₅₀ (Gupta, 2019; Kurniawan, *et al.*, 2021). Lebih lanjut spons *Haliclona* sp. dapat bertindak sebagai antibakteri dimana didasari pada zona zambat yang dihasilkan oleh senyawa bioaktif dari golongan metabolit sekunder (Liang, *et al.*, 2023).

Ekstrak etil asetat spesies *Haliclona* sp. famili Chalinidae dari perairan Mauritius memiliki aktivitas sitotoksik (IC₅₀) pada konsentrasi 50 µg/mL terhadap sel kanker Hela dengan presentase 52 ± 25 % (Beedessee *et al.*, 2012) dan spesies tersebut juga diketahui memiliki toksisitas terhadap *Artemia salina* dengan nilai LC₅₀ sebesar 25,76 ppm (Millenia, *et al.*, 2022). Informasi metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat spons *Haliclona* sp. asal Kalimantan Barat masih belum diketahui. Hal tersebut mendorong penulis untuk melakukan penelitian lanjutan dari Millenia, *et al.*, 2022 khususnya mengenai uji aktivitas antibakteri dan karakterisasi metabolit sekunder fraksi etil asetat spons *Haliclona* sp. Asal pulau Lemukutan.

2. Bahan dan Metode

Bahan dan peralatan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain adalah Agar, asam sulfat (H_2SO_4), bakteri *Staphylococcus aureus*, diklorometan (CH_2Cl_2), etil asetat ($C_2H_5COOCH_3$), ekstrak yeast, metanol (CH_3OH), *n*-heksana (C_6H_{14}), Natrium klorida (NaCl), pepton, sampel fraksi etil asetat spons *Haliclona* sp. (fraksi M9 dan M10), silika G60 F254, silika G60 (230-400 mesh), serum sulfat, vanilin sebagai reagen penampak noda, dan tetrasiklin. *Aluminium foil*, batang pengaduk, botol reagen, botol semprot, botol vial 10 mL, cawan petri, corong, gelas beaker, *hot plate*, kertas saring *whatman*, labu ukur, lampu UV 254 dan 366 nm, neraca analitik, plat KLT dengan silika gel 60 F254, pipet kapiler, pipet tetes, pipet ukur, seperangkat alat kromatografi kolom tekan (*flash column*), silika gel 60 (70-230 mesh), spatula, spektrometer FTIR Shimadzu.

1. Uji Aktivitas Antibakteri

Media *Nutrient Agar* (NA) (pepton 0,5 gr; NaCl 0,5 gr; yeast 0,2 gr; dan agar 2 gr) dilarutkan dalam akuades 100 mL dan dipanaskan. Selanjutnya larutan NA disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan *Nutrient Broth* (NB) (pepton 0,5 gr; NaCl 0,5 gr; yeast 0,2 gr) dilarutkan dalam akuades 100 mL dan dipanaskan. Selanjutnya larutan NB disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C. Setelah itu dibiakan bakteri *S. aureus* dengan diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan pada *nutrient broth*. Berikutnya larutan NB di *shaker* selama 16 jam sehingga didapatlah suspensi larutan bakteri yang keruh. Larutan NA dan NB kemudian dicampur dengan perbandingan 15:1 (Kurniawati, *et al*, 2017).

Analisis aktivitas antibakteri pada fraksi M₉₋₁₀. A sampai M dari spons *Haliclona* sp. menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang termasuk bakteri gram-positif menggunakan metode difusi sumur. Fraksi M₉₋₁₀. A sampai M sebanyak 219,7 mg dilarutkan dengan 4,392 mL metanol untuk membuat larutan induk dengan konsentrasi 50 µg/µL. Selanjutnya larutan induk diencerkan secara bertingkat dengan variasi konsentrasi 25 µg/µL; 12,5 µg/µL; 6,25 µg/µL dalam volume larutan 5 mL. Kontrol positif yang digunakan berupa larutan antibiotik

tetrasiklin 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan kontrol negatif berupa metanol. Sebanyak 20 μL kontrol positif, kontrol negatif, larutan induk, dan tiga variasi konsentrasi dipipet ke dalam sumur yang berukuran 6 mm; dimana diinkubasi selama 24 jam pada temperatur ruang. Terakhir zona hambat diukur dengan jangka sorong (Handayani, *et al.*, 2021).

2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada sampel ditujukan untuk identifikasi senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, terpenoid, dan steroid. Masing-masing uji dilakukan dengan reagen spesifik dimana dikatakan positif ketika terjadi perubahan warna atau muncul endapan. Berikut ini adalah reagen-reagen yang digunakan untuk skrining fitokimia (Supriadin, *et al.*, 2017; Shaikh dan Patil, 2020):

- a. Uji Alkaloid menggunakan reagen Dragendrof yang membentuk endapan merah kecoklatan dan Mayer terbentuk endapan kuning atau putih krim serta Wagner terbentuk endapan coklat atau merah jika larutan positif terdapat alkaloid.
- b. Uji Saponin menggunakan HCl, dimana saat dikocok terbentuk busa yang konsisten maka larutan tersebut mengandung saponin.
- c. Uji Flavonoid menggunakan 2 mL larutan NaOH 0,2 M yang ditambahkan ke dalam ekstrak, dimana terbentuk warna kuning terang, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan HCl encer dan berubah menjadi tidak bewarna sampelnya jika positif mengandung flavonoid.
- d. Uji Tanin menggunakan uji Braymer dengan ditambahkan akuades dan 10% larutan FeCl_3 secara kualitatif dan terbentuk warna biru-kehijauan jika positif mengandung tanin.
- e. Uji Terpenoid dengan ditambahkan 2 mL kloroform pada sampel, kemudian diuapkan menggunakan waterbath dan ditambahkan 3 mL H_2SO_4 pekat sambil dididihkan terbentuk larutan warna abu-abu.
- f. Uji Sterol menggunakan uji Salkowski dengan ditambakkannya H_2SO_4 pekat secara kualitatif dan dikocok, jika positif terbentuk warna merah di lapisan bawah.

3. Kromatografi Kolom Tekan

Fraksi etil asetat gabungan M9 dan M10 selanjutnya dilakukan kromatografi kolom tekan. Silika gel G60 (230-400 mesh) dimasukkan ke dalam kolom (sebagai fase diam) sampai jarak antara permukaan silika dari bagian atas kolom 4-5 cm, dimana dasar kolom sebelumnya telah disumbat menggunakan kapas. Kemudian silika gel ditambahkan pelarut elusi terbaik yang didapatkan dari hasil uji KLT ke dalam kolom, dan ditekan menggunakan udara agar eluen melewati silika lalu didiamkan selama 24 jam. Setelah itu sampel dilarutkan dalam sedikit pelarut dan ditambahkan ke silika gel yang mana silika gel tersebut memiliki kuantitas yang sama dengan sampel dan ditunggu sampai kering dan homogen.

Sampel yang telah diimpregnasi ditambahkan ke kolom dan kemudian dielusi dengan eluen n-heksana 100%; n-heksana : diklorometana dengan berbagai perbandingan volume, diklorometana 100%; diklorometana : metanol dengan berbagai perbandingan volume, metanol : akuades dengan berbagai perbandingan volume. Elusi menggunakan gaya tekan (*flash*) sambil kerannya dibuka. Eluen sampel ditampung dalam botol vial dan kemudian sampel tersebut diuji dengan KLT kembali, dimana noda yang relatif sama digabungkan (Roge, *et al.*, 2011; Wati, *et al.*, 2017; Damiyanti, *et al.*, 2020).

4. Karakterisasi Metabolit Sekunder

Karakterisasi metabolit sekunder pada spons *Haliclona* sp. menggunakan instrumen spektrofotometer FTIR Shimadzu.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Spons *Haliclona* sp.

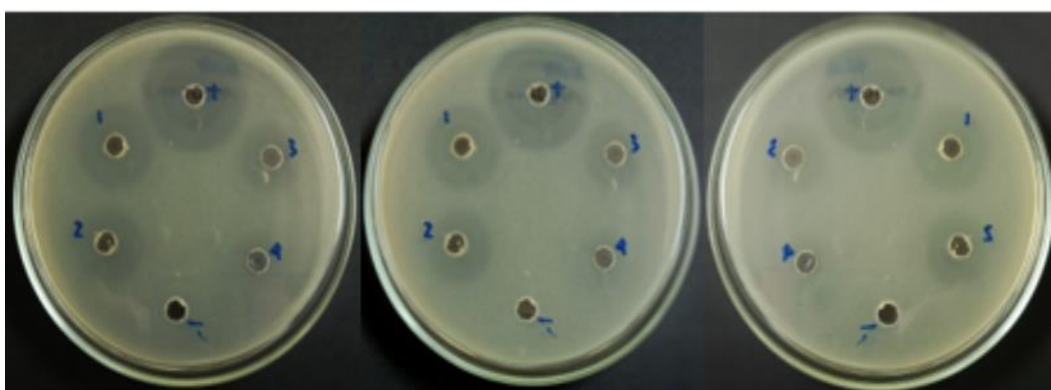
Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri patogen penyebab infeksi seperti bisul, abses, dan jerawat (Umarudin dan Yuliarni, 2019). Uji aktivitas antibakteri pada fraksi gabungan M9 dan M10 menggunakan metode sumuran, yaitu sampel uji dimasukkan ke dalam lubang yang dibuat pada media padat. Prinsipnya terjadi proses difusi, sehingga zona hambat terhadap bakteri terlihat (Pelu dan Djarami, 2022). Pemberian dosis massa untuk masing-masing

konsentrasi 50; 25; 12,5 dan 6,25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ secara berturut-turut 1; 0,5; 0,25; 0,125 mg. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi gabungan tersebut pada spons *Haliclona* sp. terhadap bakteri *S. Aureus* terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Zona hambat untuk bakteri *S. aureus*

Perlakuan	Kontrol (+)	Konsentrasi ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)				Kontrol (-)
		50	25	12,5	6,25	
1	24,10	17,45	15,10	9,05	0	0
2	24,15	18,10	15,40	9,50	0	0
3	24,20	18,15	15,20	9,40	0	0
Rerata	24,15 \pm 0,04	17,9 \pm 0,31	15,23 \pm 0,12	9,32 \pm 0,19	0	0

Ket. Satuan zona hambat dalam milimeter (mm)

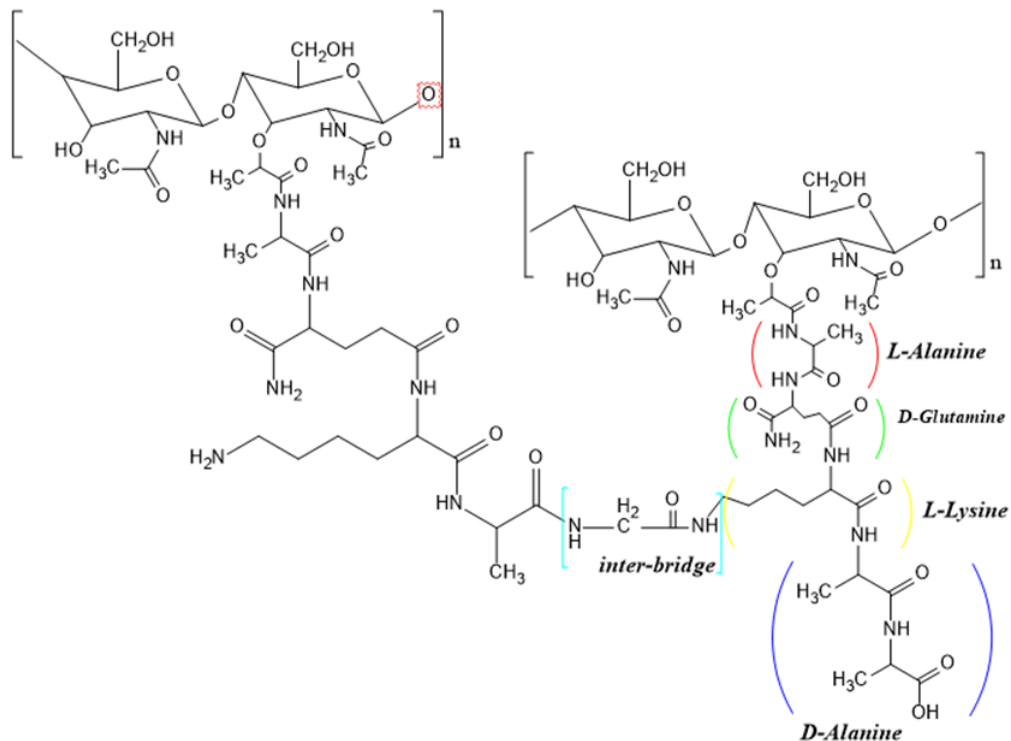


Gambar 1. Zona hambat terhadap bakteri *S.aureus*

Gambar dan Tabel di atas menunjukkan bahwa fraksi gabungan M_{9-10.A} sampai M_{9-10.M} spons *Haliclona* sp. memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* bersesuaian dengan gradien konsentrasi larutan fraksinya. Data zona hambat menyatakan bahwa konsentrasi 50 dan 25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ terindikasi kuat sedangkan untuk konsentrasi 12,5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ terindikasi lemah dalam menghambat bakteri *S. aureus* serta untuk konsentrasi 6,25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ tidak aktif (Latifah, *et al.*, 2021 dan Liang, *et al.*, 2023). Hal ini sesuai dengan literatur Latifah, *et al* (2021) yang menyatakan bahwa fraksi etil asetat dari spons *Haliclona* memiliki daya hambat terhadap bakteri

gram-positif khususnya *S. aureus* dimana berada pada rentang zona hambat >15 terindikasi kuat; 11-15 mm diindasikan moderat; dan ≤10 mm diinkasikan lemah.

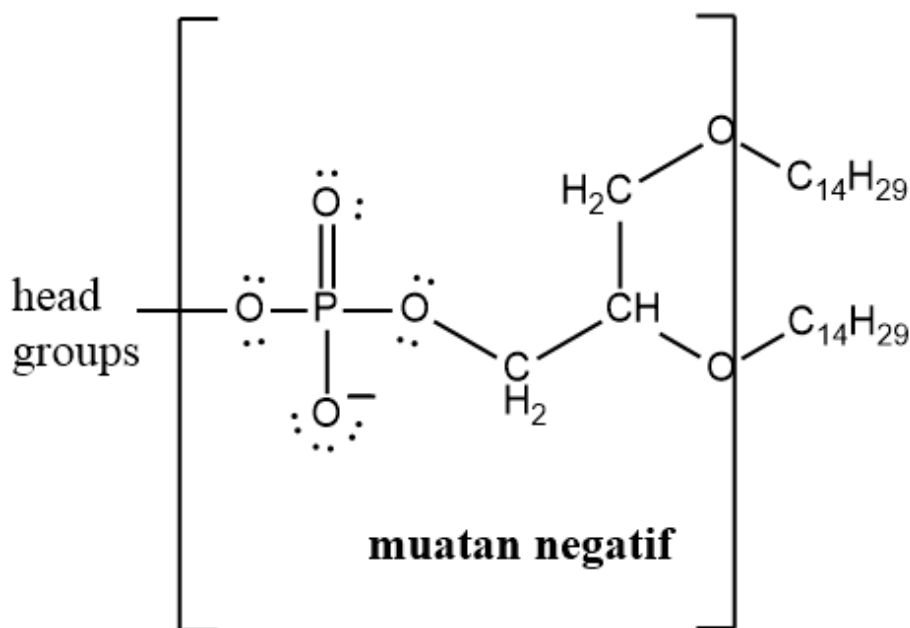
Konsentrasi 12,5 µg/µL adalah batas minimum konsentrasi (MIC) yang dapat menghambat bakteri *S. aureus*. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi 6,25 µg/µL memiliki diameter zona hambat 0 mm (tidak aktif) (Tampongangoy, *et al.*, 2019). Bakteri gram-positif hanya tersusun atas dinding sel tebal yang disebut peptidoglikan yang memastikan keadaptifan dinding sel dan berperan dalam kepadatan struktur gram-positif. Bakteri gram-negatif memiliki *outer-membrane* berupa lipopolisakarida yang menyelimuti peptidoglikan. Oleh sebab itu bakteri gram-positif relatif lebih rentan terhadap senyawa dengan aktivitas biologi dibandingkan dengan bakteri gram-negatif yang memiliki lapisan luar lipopolisakarida sehingga relatif resisten terhadap senyawa dengan aktivitas antibakteri (Yasmin, *et al.*, 2019). Berikut adalah struktur dari peptidoglikan (Malanovic and Lohner, 2015):



Gambar 2. Struktur peptidoglikan (Malanovic and Lohner, 2015)

Peptidoglikan yang dimiliki oleh bakteri gram-positif sebesar 90% dari berat keringnya, dan 10% dari berat kering bakteri gram-negatif. Pada bakteri gram-positif peptidoglikan dapat mencapai 40-80 lapisan, dimana strukturnya tersusun atas unit gula disakarida yang terdiri dari N-asetilglukosamin dan asam asetilmuramat dengan dihubungkan pada posisi (1,4) ikatan glikosida. Rantai samping pada posisi 3 dari asam N-asetilmuramat berikatan dengan lima ikatan peptida dari empat jenis asam amino dengan urutan *L-alanyl-γ-D-glutamyl-diaminopimelyl* atau (*L-lysyl*)-*D-alanyl-D-alanine*. Lebih lanjut pada bakteri gram-positif terdapat *inter-bridge* yang menghubungkan bagian dua unit disakarida-pentapeptida (Malanovic and Lohner, 2015).

Peptidoglikan pada bakteri gram-positif tersebut melindungi membran sel (membran sitoplasma) yang berfungsi sebagai pengendali jalur senyawa kimia keluar-masuk sel. Fungsi dari membran plasma yaitu permeabilitas selektif; pengangkutan larutan, elektron, fosforilasi oksidatif, dan eksoenzim hidrolitik; sebagai tempat biosintesis DNA, polimer dinding sel dan selaput lipid (Didimus, 2015). Pada membran sel terdapat senyawa fosfolipid seperti pada gambar gambar 3 (Malanovic and Lohner, 2015):



Gambar 3. Fosfolipid (Malanovic and Lohner, 2015)

Gugus kepala pada fosfolipid dapat berupa senyawa ion positif seperti *choline* ($C_4H_{13}N^+$) dan *ethanolamine* ($C_2H_7N^+$); senyawa netral yaitu *glycerol* ($C_3H_7O_2$) dan *serine* ($C_3H_3COO^-NH_3^+$) (Malanovic and Lohner, 2015). Uji aktivitas antibakteri dapat menunjukkan bahwa fraksi senyawa bersifat bakteriostatik yang hanya menghambat bakteri tumbuh; sedangkan bakterisidal dapat membunuh bakteri (Umarudin dan Yuliarni, 2019).

Tabel 2. Uji Fitokimia

Fitokimia	Hasil
Alkaloid (Meyer, Wagner, Dragendrof)	+++
Terpenoid (Lieberman Burchard)	+
Tanin (FeCl ₃ 5%)	-
Saponin (H ₂ O+HCl 2N)	-
Flavonoid (Mg+HCl)	-

Uji fitokimia dilakukan pada sampel yang sama saat uji aktivitas antibakteri. Jika dilihat bahwa secara dominan alkaloid berperan dalam aktivitas antibakteri pada *S. aureus* dengan menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu integritas membran dan aktivitas membran sitoplasma. Secara sederhana dengan menyerang DNA/RNA membuat bakteri kehilangan kemampuan dari sifat toksik terhadap inangnya. Hal tersebut dikarenakan alkaloid dapat berupa turunan asam amino sehingga gugus cincin heterosiklik memiliki kesamaan dengan basa purin/pirimidin pada DNA dan RNA. Selain itu alkaloid dapat merusak membran sel bakteri menyebabkan fungsi transpor dan transfer informasi di membran diblokade serta mengganggu permeabilitas membran sel. Rantai karbon terpen yang hidrofobik memiliki kecenderungan kuat terhadap bagian lipid pada membran plasma, sedangkan bagian hidrofilik karena dapat berikatan dengan protein (Nogueira, *et*

al., 2021; Murray, *et al.*, 2009; Kaltschmidt, *et al.*, 2020; Handayani, *et al.*, 2021; Yan, *et al.*, 2021).

3.2 Kromatografi Kolom Tekan untuk Fraksi Etil Asetat (M9 dan M10)

Prinsip dari kromatografi kolom tekan (*flash chromatography*) berhubungan dengan penggunaan silika gel (250-400 mesh) dimana artinya pori-pori silika gelnya kecil sehingga dibutuhkan dorongan dari pompa yang memiliki tekanan agar pelarut beserta sampelnya dapat melewati silika gel tersebut. Fungsi utama dari kromatografi kolom tekan yaitu untuk memisahkan senyawa dari ekstrak alam menjadi murni (purifikasi) (Roge, *et al.*, 2011; Kondeti, *et al.*, 2014; Bhusal, *et al.*, 2017). Kolom dikemas dengan cara basah menggunakan silika gel. Selanjutnya silika gel dimasukkan ke dalam kolom dan ditambahkan *n*-heksana untuk melulusi kolom tersebut agar terbentuk silika gel yang padat. Gabungan fraksi M9 dan M10 dari spons *Haliclona* sp. dengan massa 1,343 gram diimpregnasi menggunakan silika gel. Hal tersebut diharapkan sampel teradsorpsi pada silika gel sehingga memperbesar permukaan sampel, yang mana membuat sampel terikat pada silika gel akan bergerak berdasarkan polaritasnya, serta untuk menghindari sampelnya larut terlebih dahulu dimana akan membuat isolat tidak keluar secara bersamaan (Wati Mila *et al.*, 2017).

Kolom selanjutnya dilulusi secara gradien dengan menggunakan eluen *n*-heksana : DCM dengan berbagai perbandingan dari *n*-heksana 100%; *n*-heksana : DCM (8:2); (7:3); (6:4); (5:5); (4:6); (3:7); (2:8); (1:9); DCM 100%. Selain itu juga menggunakan eluen DCM : MeOH yang dimulai dari (98:2); (5:95); (10:90); (20:80); (70:30); (60:40); (50:50); (30:70); (20:80); (10:90); serta eluen MeOH 100%; MeOH : H₂O (98:2); (20:80). Hasilnya didapatkan total fraksi pada botol vialnya sebanyak 488 botol. Prosedur setelahnya dilakukan KLT pada masing-masing botol vial untuk melihat pola noda yang sama masing-masing fraksi sehingga dapat digabung menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana. Dengan demikian didapatkan 13 (A-M) fraksi sederhana, dan dilakukan KLT kembali agar dapat digabung kembali fraksi yang memiliki pola noda yang sama. Maka

didapatlah 13 fraksi hasil penggabungan dari kromatografi kolom tekan. Berikut adalah hasil massa dari fraksi-fraksi hasil KKT:

Tabel 3. Hasil massa fraksi sederhana dari KKT

Kode Fraksi	No. Botol Vial	Massa Fraksi (g)
M ₉₋₁₀ . A	62-72	0,0102
M ₉₋₁₀ . B	79-96	0,0053
M ₉₋₁₀ . C	97-133	0,0079
M ₉₋₁₀ . D	134-141	0,0031
M ₉₋₁₀ . E	246-253	0,0253
M ₉₋₁₀ . F	290-300	0,0976
M ₉₋₁₀ . G	302-309	0,1249
M ₉₋₁₀ . H	311-321	0,0933
M ₉₋₁₀ . I	323-333	0,0262
M ₉₋₁₀ . J	335-346	0,0389
M ₉₋₁₀ . K	348-358	0,0278
M ₉₋₁₀ . L	395-407	0,0108
M ₉₋₁₀ . M	73-78	0,0066

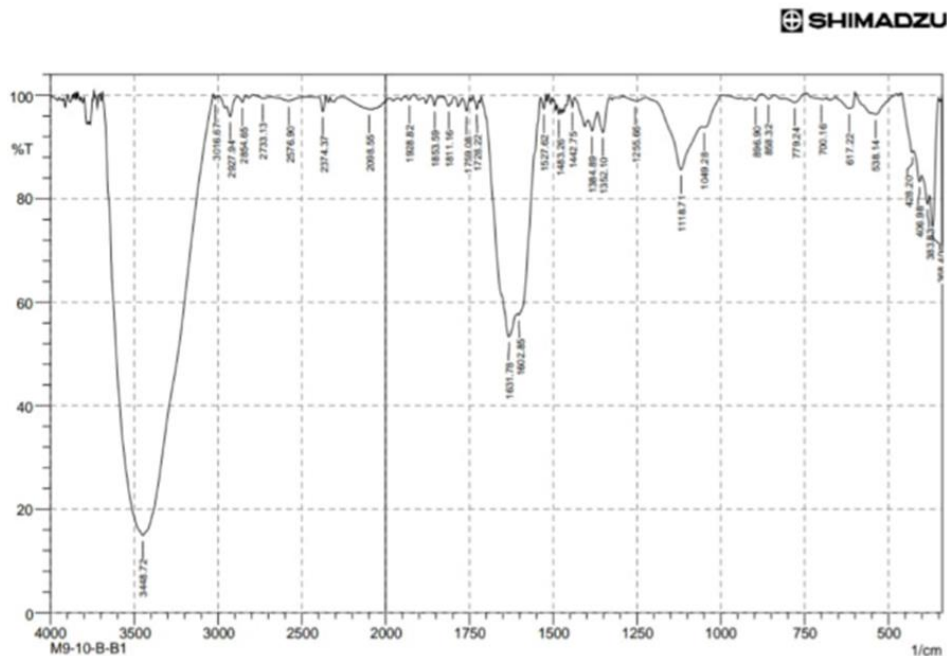
Fraksi yang dipilih untuk dilanjutkan ke tahap Kromatografi Lapis Tipis Preparatif adalah fraksi M₉₋₁₀. B. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif berguna untuk mendapatkan senyawa relatif murni, jikalau suatu fraksi masih terlihat belum murni; dengan proses layaknya KLT pada umumnya sehingga setelah dielusi

diletakkan di bawah lampu UV 254 dan 366 nm agar dengan mudah dikerok masing-masing noda yang sudah relatif murni (Rabel, 2019).



Gambar 3. Hasil KLTP fraksi M9-10. B

3.3 Karakterisasi Senyawa pada Isolat M₉₋₁₀. B1



Gambar 4. Spektrum FTIR isolat M₉₋₁₀. B1

Berdasarkan dari spektrum FTIR di atas dapat diketahui bahwa diprediksi adanya gugus olefin pada $3016,67\text{ cm}^{-1}$ yang didukung adanya C=C pada $1631,78\text{ cm}^{-1}$. Selanjutnya diprediksi juga adanya gugus hidroksi yang terikat dengan didukung adanya O-H dan C-O alkohol secara berturut-turut $3448,72$ dan $1187,71\text{ cm}^{-1}$. Selanjutnya diprediksi juga adanya gugus halogen yang terikat pada bilangan gelombang $617,22$ - $410,84\text{ cm}^{-1}$. Hal tersebut berhubungan dengan daerah sidik jari untuk gugus halogen yang dapat dilihat pada tabel 4 (Coates, 2000; Kumar, 2022; Yadav, 2005):

Tabel 4. Daerah sidik jari gugus halogen

Halogen	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
C-F	1400-1000
C-Cl	785-540; 800-600
C-Br	650-510; 750-500
C-I	600-485; ~500
CH ₂ -Cl	1300-1230
CH ₂ -Br	1250-1190
CH ₂ -I	1200-1150

Oleh karena itu dengan pertimbangan data pada tabel 4 diprediksikan bahwa gugus halogen yang terikat merupakan gugus bromin.

4. Simpulan

Fraksi gabungan dari M9 dan M10 memiliki aktivitas kuat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50 dan 25 µg/ µL dan lemah pada konsentrasi 12,5 serta pada 6,25 µg/ µL tidak ada aktivitas. Pada fraksi etil asetat isolat M₉₋₁₀. B₁ diprediksi memiliki kemiripan dengan olefin dari kelompok terpen.

5. Daftar Pustaka

1. Amraoui Belakkssem E., Jean François B., Fatima Ez-Zohra I., Majida El W., Mostafa Kandil, Mohammed El Amraoui, dan Aziz Fassouane, 2015, Activity of Haliscosamine Against *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*: In Vitro and In Vivo Analysis, *Springer Open Journal*, 4(16):1-5, DOI 10.1186/s40064-4-015-0797-x.

2. Bhusal R. D., Nahar D. M., Dalvi P. B., 2017, Review on: Falsh Colum Chromatography, *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 7(1): 7373-7358, ISSN 2231-6876.
3. Coates J., 2000, *Encyclopedia of Analytical Chemistry- Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach*, John Wiley & Sons Ltd, Chicester.
4. Damiyanti Kristina, Widiyantoro Ari, Rudyansyah, 2020, A Prentylated Flaavonoid from the Methanol Fraction of Breadfruit Root (*Artocarpus communis*), *Jurnal Akademia Kimia*, 9(4): 237-244, E-ISSN 2477-5158.
5. Didimus T. B., 2015, *Bakteriologi-Konsep-Konsep Dasar*, Cetakan Pertama, UMM Press, Malang, ISBN: 978-979-796-329-3.
6. Gupta Poonam, 2019, Chemical Constituents of *Haliclona*: An Overview, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1): 823-827, E-ISSN 2278-4136
7. Handayani S., Widowati R., Al Fikri A. R., 2021, Phytochemical Screening and Antibacterial Activities of Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Ethanolic Extract Leaves, *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 26(4): 562-568, e-ISSN 2443-3462.
8. Kalschmidt B. P., Ennen I., Greiner J. F. W., Dietsch R., Patel A., Kalschmidt C., Hütten A., 2020, Preparation of Terpenoid-Invasomes with Selective Activity against *S. aureus* and Characterization by Cryo Transmission Electron Microscopy, *Biomedicines*, 8: 105, 1-18.
9. Kondeti Ranjith R., Mulpuri Kranti S., Meruga Bharathi, 2014, Advancements In Column Chromatography: A Review, *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(9): 1375-1383, E-ISSN 2321-3086.
10. Kumar V., 2022, *Spectroscopy-I*, Department of Chemistry Uttarakhand Open UniversityHaldwani, Nainital.
11. Kurniawan Muhammad R., Sapar Ajuk, Aritonang Anthoni B., 2021, Uji Toksisitas dan Uji Fitokimia Spons *Haliclona* sp. Asal Pulau Lemukutan Kabupaten Bengkayang Kalimantan Barat, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 9(10): 1-5, ISSN 2303-1077.
12. Kurniawati, S., Ardiningsih, P., Widiyantoro, A., 2017, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Akar Bambak (*Ipomoea* sp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(2): 44-50.
13. Latifah L. A., Tahir A., Soekamto N. H., 2021, Antibacterial Assay of Crude Extracts from Marine Sponge *Haliclona fascigera* in Badi Island of Spermonde Archipelago Against

Shrimp Pathogenic Bacteria, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 763

14. Liang J., She J., Fu J., Wang J., Ye Y., Yang B., Liu Y., Zhou X., Tao H., 2023, Advances in Natural Products from the Marine-Sponge-Associated Microorganisms with Antimicrobial Activity in the Last Decade, *Mar. Drugs*, 21, 236.
15. Malanovic N and Lohner K., 2015, Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides, *Biochimica et Biophysica*.
16. Millenia, Sapar A., Aritonang A. B., Rudiyansyah, and Rahmalia W., 2022, Characterization of Secondary Metabolites and Cytotoxic Assay of *Haliclona* sp. Sponge Against T47D Breast Cancer Cells, *al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 10(1): 40-49, e-ISSN: 2407-1927
- Murray R. K., Bender D. A., Botham K. M., Kennely P. J., Rodwell V. W., Weil P. Anthony, 2009, *Harper's Illustrated Biochemistry*, 28th Edition, The McGraw-Hill Companies, United States, ISBN 978-0-07-170197-6.
17. Nogueira J. O., Campolina G. A., Batista L. R., Alves E., Caetano A. R. S., Brandao R. M., Nelson D. L., Cardoso M. dG., 2021, Mechanism of Action of Various Terpenes and Phenylpropanoids Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *FEMS Microbiology Letters*, 268
- 18 Patil A. D., Kokke W. C., Cochran S., Francis T. A., Tomszek T., Westley J. W., 1992, Brominated Polyacetylenic Acids from The Marine Sponges *Xestospongia muta*: Inhibitor of HIV Protease, *Journal of Natural Products*, 55(9): 1170-1177.
19. Pavia D. L., Lampman G. M., Kriz G. S., 2001, *Introduction to Spectroscopy – A Guide for Student of Organic Chemistry*, 3th Edition, Thompson Learning, United States of America, ISBN 0-03-031961-7.
20. Pelu A. D. dan Djarami J., 2022, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Harendong Bulu (*Clidemia hirta*) asal Maluku terhadap *Staphylococcus aureus*, *JUMANTIKA*, 7(4): 351-357.
21. Putra Masteria Yunovilsa dan Hadi Tri Aryono, 2017, Chemical Composition, Antimicrobial, Cytotoxic, and Antiplasmodial Activities of Three Sponges from Buton Islands, Indonesia, *Ilmu Kelautan*, 22(3): 147-154, ISSN 0853-7291.
22. Rabel Fred and Sherma Joseph, 2019, Review of Thin Layer Chromatography in Pesticide Analysis: 2016-2018, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 1-14, <https://doi.org/10.1080/10826076.2018.1557055>

23. Roge A. B., Firke S. N., Kawade R. M., Sarje S. K., Vadvalkar S. M., 2011, Brief Review on: Flash Chromatography, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(8): 1930-1937, ISSN 0975-8232.
24. Schories Dirk dan Kohlberg Gesche, 2016, *Marine Wildlife King George Island Antarctica*, Edisi-1, Dirk Schories Publication, Rostock-Jerman, ISSN 978-00-050832-5
25. Sipkema Detmer, Maurice C.R. Fransen, Ronald Osinga, Johannes Tramper, Rene´ H. Wijffels, 2005, Marine Sponges as Pharmacy, *Marine Biotechnology*, 7: 142-162, DOI: 10.1007/s10126-004-0405-5
26. Shaikh Junaid R., Patil M.K., 2020, Qualitative Tests for Preliminary Phytochemical Screening: An Overview, *International Journal of Chemical Studies*, 8(2): 603-608, E-ISSN 2321-1902. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
27. Shushizadeh M. R., Behrooz S., Behfar AA. Nazemi M., 2018, Antibacterial Activity and GC-Mass Analysis of Organic Extract from Persian Gulf *Haliclona* sp., *Pharmacophore*, 9(2): 19-24.
28. Supriadin Asep, Kudus Rohana, dan Amalia Vina Amalia, 2017, Efek Larvasida Hasil Fraksinasi Metanol Daun *Aglaia glabrata* Terhadap Larva *Aedes aegypti*, *Jurnal UIN Sunan Gunung Djati*, X (1): 68-81, ISSN 1979-8911.
29. Tampongangoy D., Maarisit W., Ginting A. R., Tumbel S., Tulandi S., 2019, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kayu Kapur *Melanolepis multiglandulosa* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Escherechia coli*, *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 2(1): 107-114, e-ISSN 2685-3167.
30. Umarudin dan Yuliarni F. F., 2019, Uji Antimikroba Daging Buah (*Carica pubescens*) Matang Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Metode Kirby Bauer Secarra In Vitro, *Simbiosis*, 8(2): 148-157, e-ISSN 2598-6007
31. Wati M., Erwin, T. D., 2017, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Etil Asetat pada Daun Berwarna Merah Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifilium Walp.*), *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14(2): 100-107, E-ISSN 2476-9258.
32. Yadav L.D.S., 2005, *Organic Spectroscopy*, 1st Edition, Springer-Science+Business media B.V., India, ISBN 978-94-2508-8.
33. Yan Y., Li X., Zhang C., Lv L., Gao B., Li M., 2021, Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review, *Antibiotics*, 10, 318.

34. Yasmin Y., Fitri L., Fauziah, Wasliyah F., 2019, Isolation of Bacteria from *Apis cerana* Hive, Their Antibacterial Potency and Cytotoxicity, *Biodiversias*, 20(9): 2733-2738, e-ISSN: 2085-4722