

**ANTIBACTERIAL ACTIVITIES TEST OF EXTRACT AND FRACTIONS SPONS OF SPONGE
Leucetta chagosensis FROM MANTEHAGE ISLANDS WATERS, NORTH SULAWESI AGAINST
THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* BACTERIA**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI SPONS *Leucetta
chagosensis* DARI PERAIRAN PULAU MANTEHAGE SULAWESI UTARA
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

Eunike Pelealu^{1)*}, Defny Wewenggang¹⁾, Surya Sumantri¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*eunikepelealuyh@gmail.com

ABSTRACT

Sponges are one of the biota components that make up coral reefs which are quite widely distributed. The metabolite content in the sponge can ward off and inhibit the pathogenic bacteria that interfere with it. This study aims to determine the activity of inhibiting bacterial growth from the extract and fraction of *Leucetta chagosensis* sponge against the growth of Gram-positive *Staphylococcus aureus* and Gram-negative *Escherichia coli* bacteria. The samples were extracted using the maceration method with 95% ethanol solvent and then fractionated using 3 solvents with different polarity levels, namely methanol, n-hexane and chloroform. Activity test using the disk diffusion agar method of Kirby and Bauer. Only the MeOH fraction was able to inhibit the growth of *E. coli* bacteria with an average inhibition zone of 6.88 mm. Whereas for *S.aureus* bacteria extracts and all fractions showed activity to inhibit bacterial growth with an average inhibition zone of EtOH (6.61 mm), CHCl₃ (6.68 mm), n-hexane (7.83 mm) and MeOH (8.00 mm), respectively. All activities that are shown are categorized as weak (weak).

Keywords: Antibacterial, *Leucetta chagosensis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang penyebarannya cukup luas. Kandungan metabolit yang ada di dalam spons dapat menangkal dan menghambat bakteri patogen pengganguanya. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri dari ekstrak dan fraksi spons *Leucetta chagosensis*. terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan Gram negatif *Escherichia coli*. Sampel di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% lalu di fraksinasi dengan menggunakan 3 pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu metanol, n-heksan dan kloroform. Uji aktivitas menggunakan metode *disk diffusion agar* Kirby dan Bauer. Hanya fraksi MeOH yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dengan zona hambat rata-rata 6,88 mm. Sedangkan terhadap bakteri *S.aureus* ekstrak dan semua fraksi menunjukkan aktifitas menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata zona hambat masing-masing EtOH (6,61 mm), CHCl₃ (6,68 mm), n-Heksan (7,83 mm), dan MeOH (8,00 mm). Semua aktivitas yang ditunjukkan dikategorikan lemah (weak).

Kata kunci : Antibakteri, *Leucetta chagosensis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Menurut Arini (2017) Indonesia adalah negara kepulauan dengan dua pertiga wilayahnya adalah lautan. Indonesia diberikan gelar sebagai negara bahari, dengan posisinya yang strategis yaitu wilayah tropis menjadikan Indonesia dikenal dengan negara yang kaya akan keragaman hayati.

Berbagai penelitian yang dilakukan oleh Ismet (2017), menunjukkan bahwa biota laut memiliki potensi yang sangat besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat. Sejak tahun 1980-an, perhatian dunia pengobatan mulai terarah ke biota laut yang diketahui dapat menghasilkan senyawa aktif.

Sumber alternatif dalam penemuan antibiotika yaitu bahan alam baik dari tanaman maupun biota laut. Indonesia mempunyai sumber daya alam bahari yang besar. Terdapat beraneka ragam sumberdaya alam hayati laut yang meliputi 300 jenis karang, lebih dari 200 jenis ikan serta beberapa jenis spons (Mokodompit dkk., 2015).

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang penyebarannya cukup luas. Terdapat 15.000 spesies spons di seluruh dunia dan sekitar 45% senyawa bioaktif ditemukan pada spons (Denning, 2006).

Kandungan metabolit yang ada di dalam spons dapat menangkal dan menghambat bakteri patogen pengganggunya. Hal ini membuat spons menjadi salah satu hewan laut yang menarik untuk diteliti karena berpotensi besar untuk dikembangkan dalam bidang pengobatan yaitu sebagai antibakteri (Abubakar *et al.*, 2006; Suparno, 2005).

Antibakteri merupakan zat yang menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi. Mekanisme kerja antibakteri dapat terjadi melalui beberapa cara yaitu merusak pada dinding sel, perubahan permeabilitas sel, dan menghambat sintesis protein dan asam nukleat. Terdapat beberapa faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi kerja antibakteri, antara lain konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, adanya bahan organik, suhu, dan pH lingkungan (Fajrina, dkk 2008).

METODOLOGI PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara. Sedangkan untuk pengamatan dan analisis data penelitian ini akan dilakukan di Penelitian Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi pada bulan Oktober 2020 – Maret 2021.

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian yaitu eksperimen laboratorium dengan rancangan penelitian dimana sampel spons *Leucetta chagosensis* disiapkan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol kemudian akan dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri

Alat Dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, gunting, tabung oksigen, snorkel, fins, zipper lock bag, botol 600 ml, talenan, cool box, pisau, Erlenmeyer (Pyrex), corong, rotary evaporator, timbangan analitik, corong pisah, gelas ukur, gelas kimia (Pyrex), cawan petri, autoklaf, pinset, pembakar spritus, magnetic stirrer, pipet tetes, micro tubes, hot plate, batang pengaduk, Laminar air flow, rak tabung reaksi, tabung reaksi, lemari pendingin, inkubator, cakram (paper disc), mikropipet, mistar berskala, kertas label, spidol permanen.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu spons *Leucetta chagosensis* bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* etanol, akuades, metanol, n-heksan, kloroform, pepton, natrium klorida, media agar B1 (beef extract), agar, kloramfenikol, paper disc, tissue, aluminium foil, kertas saring

Pengambilan Sampel dan Preparasi Sampel

Sampel spons *Leucetta chagosensis* diperoleh dari perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara. Sampel diambil dengan menggunakan alat bantu (masker, snorkel, fins,

tabung oksigen, ziplok dan pisau), kemudian dimasukkan dalam ziplok dan diberikan label. Sampel yang telah didapat langsung dibersihkan dari pengotor, lalu dipotong kecil-kecil dan langsung dimasukkan kedalam botol yang berisi pelarut etanol 95%. Botol sampel dimasukkan kedalam kotak dingin (cool box) yang berisi es batu dan tidak terkena matahari secara langsung. Di Laboratorium Farmakognosi Fitokimia sampel tersebut diekstraksi menggunakan metode maserasi.

Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Sampel *Sponge L. chagosensis* direndam dengan menggunakan larutan etanol 95%. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut selama 3 kali 24 jam pada temperatur kamar yang dilindungi dari cahaya dan sesekali dikocok. Kemudian diambil filtratnya dan residu dibuang dan menghasilkan 3 filtrat yang kemudian dicampur menjadi satu. Lalu dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering yang terbentuk ekstrak kasar selanjutnya ditimbang dengan timbangan analitik. Kemudian ekstrak kasar dari spons *L. chagosensis* difraksinasi.

Fraksinasi Sampel

Ekstrak kasar spons *L. chagosensis* yang diperoleh dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan metanol 80% sebanyak 100 mL. Setelah larut, dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL setelah itu dikocok dalam corong pisah sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk lapisan metanol dan lapisan n-heksan, kemudian masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering, lalu ditimbang dan diperoleh fraksi n-heksan. Selanjutnya, lapisan metanol ditambahkan akuades sebanyak 100 mL kemudian dipartisi dengan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1 v/v dalam corong pisah, setelah itu dikocok kembali sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan metanol dan kloroform, kemudian masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform selanjutnya dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering lalu ditimbang berat

sampel dan diperoleh fraksi kloroform. Lapisan metanol kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering, lalu ditimbang dan diperoleh fraksi metanol. Ketiga fraksi yang diperoleh akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

Sterilisasi

Alat-alat gelas yang digunakan dalam penelitian aktivitas antimikroba ini disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, pinset dibakar dengan pembakaran di atas api langsung dan media disterilkan di autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Ortez, 2005).

Pembuatan Media Cair B1

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (meat extract) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, dan aquades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian dibuat homogen menggunakan magnetic stirrer lalu diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, ukur pH dengan menggunakan kertas pH. Dipipet 1 mL media cair B1, kemudian masukkan dalam tabung reaksi dan tutup dengan aluminium foil. Media cair B1 siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Ortez, 2005).

Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metanol, dengan cara membuat larutan stok metanol dengan mengambil sebanyak 5 mL metanol kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, tutup dengan aluminium foil. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding dan pelarut untuk pembuatan larutan kontrol positif dan pembuatan larutan uji.

Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif dalam pengujian antibakteri ini menggunakan kloramfenikol paper disc. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan pelarut metanol, dengan cara membuat larutan stok metanol dengan mengambil sebanyak 200 µL metanol kemudian ditotolkan pada kertas cakram.

Kultur Bakteri Uji

Media cair B1 yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan dengan masing-

masing bakteri yang sudah dikultur (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dipipet sebanyak 100 µL kedalam tabung reaksi yang berbeda. Tutup dengan aluminium foil tiap tabung reaksi dan dimasukkan kedalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37 °C.

Pembuatan Larutan Uji

Dalam pembuatan larutan uji hasil ekstraksi dan fraksinasi spons *Leucetta chagosensis*. dengan konsentrasi 250 µg/50 µL yaitu dengan membuat larutan stok, dengan cara ditimbang 0,0250 g ekstrak kasar etanol, kemudian dilarutkan dalam 5 mL metanol. Perlakuan yang sama dilakukan untuk fraksi heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol.

Pembuatan Media Agar B1

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (meat extract) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, agar 1,5 g dan aquades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian dibuat homogen menggunakan magnetic stirrer lalu diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Lakukan pengujian pH dengan kertas pH. Media agar B1 siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (disc diffusion Kirby and Bauer). Pada pengujian aktivitas antibakteri ini, cakram (paper disc) yang digunakan berukuran 6 mm dengan daya serap 50 µL tiap cakram. Sampel yang telah ditentukan konsentrasinya (250 µg/50 µL) ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Untuk media agar B1 yang sudah diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian dinginkan sampai suhu 40 °C. Tuangkan media agar B1 ke cawan petri, Ambil sebanyak 100 µL bakteri yang telah di kultur dalam tabung reaksi, dipipet dan diinokulasi pada media agar B1 dan tunggu sampai media agar B1 mengeras. Masing-masing cawan petri diberi label dan nomor sampel yang sesuai. Letakkan kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji spons *Leucetta chagosensis* dengan pinset kedalam cawan petri lalu diinkubasi selama 1x24 jam.

Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dapat dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diukur diameter total zona bening cakram. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya antibakterinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses ekstraksi dengan maserasi spons *L. chagosensis*, dimaksudkan untuk memisahkan atau menyari senyawa aktif yang ada dalam spons. Ekstraksi sendiri dimaksudkan untuk memisahkan dua atau lebih komponen yang diinginkan dengan menambahkan pelarut untuk melarutkan komponen tersebut. (Suryanto 2012).

Dalam proses ekstraksi pelarut yang digunakan adalah Etanol. Etanol dipilih sebagai pelarut dalam proses ekstraksi, karena mempunyai sifat yang selektif, ekonomis, dan mampu mengekstrak sebagian besar senyawa kimia yang terkandung dalam sampel. Pelarut etanol juga menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia, baik polar, semi polar, maupun non polar. Setelah diekstraksi sampel *L.chagosensis* dievaporasi dan menghasilkan ekstrak kasar spons *L. chagosensis* sebanyak 28,85 gram (Aditya dkk., 2018).

Fraksinasi dari ekstrak spons *L. chagosensis* mampu mengoptimalkan potensi dan memperluas spektrum aktivitasnya. Pemilihan pelarut fraksi didasarkan pada tingkat kepolaran, yaitu pelarut MeOH yang paling polar, pelarut kloroform untuk semi polar dan pelarut heksan untuk fraksi non polar. Penggunaan bermacam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda ini dimaksudkan agar senyawa aktif yang ada pada ekstrak etanol dapat dikelompokkan lagi menjadi lebih spesifik. (Mujipradhana, 2018).

Pada proses fraksinasi, ekstrak kasar etanol diambil sebanyak 5,00 gram. Hasil randemen ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Randemen Ekstrak Fraksi Spons
Leucetta chagosensis

No	Sampel	Berat (g)	Randemen (%)	Warna
1	Ekstrak Etanol	250,00	11,54	Coklat kehitaman
2	Fraksi n-Heksan	0,38	7,60	Coklat bening
3	Fraksi Kloroform	0,30	6,00	Krem pekat
4	Fraksi Metanol	1,40	28,00	Orens muda

Evaporasi sampel menghabiskan waktu yang cukup panjang, khususnya pada fraksi metanol, dimana konsentrasi pelarut fraksi metanol mengandung paling banyak air. Karena suhu yang digunakan pada proses evaporasi hanya 40°C, menyebabkan fraksi yang mengandung banyak air cukup sulit untuk menguap. Ketiga fraksi menunjukkan perbedaan yang nyata, seperti rendemen yang dihasilkan oleh fraksi metanol lebih besar dibanding dengan rendemen kloroform dan n-heksan. Hal ini disebabkan oleh karena adanya perbedaan kelarutan komponen dalam sampel.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar, fraksi metanol, fraksi heksan, dan fraksi kloroform spons *L. chagosensis* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, menggunakan metode difusi agar (difusi Kirby dan Bauer yang dimodifikasi). Metode difusi agar, menjadi pilihan untuk tujuan klinis yang mempertimbangkan kesederhanaan teknik, ketelitian, metode serbaguna bagi semua bakteri patogen yang tumbuh cepat dan sering digunakan dalam uji kepekaan antibiotik dalam program pengendalian mutu (Mpila, 2012).

Pengujian aktivitas antibakteri spons *L. chagosensis* diperoleh melalui pengamatan yang dilakukan selama 1x24 jam masa inkubasi dengan 3 kali pengulangan untuk masing-masing bakteri. Adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat (daerah bening) di sekeliling cakram terhadap bahan

antibakteri maupun antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif (Fridly, dkk. 2014).

Setelah dilakukan uji antibakteri ekstrak dan fraksi spons *Leucetta chagosensis* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diadapati hasil yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona bening ekstrak dan fraksi *Leucetta chagosensis* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

	EK	FK	FH	FM	c+	c-
<i>Ec</i>	-	-	-	7,38		
	-	-	-	7,08	21,7	-
	-	-	-	6,18		
Σ	-	-	-	20,64		
Rata-rata	-	-	-	6,88		
<i>Sa</i>	6,64	6,78	7,84	8,15		
	6,34	6,85	8,01	8,03	18,96	-
	6,86	6,41	7,65	7,82		
Σ	19,84	20,04	23,50	24,00		
Rata-rata	6,61	6,68	7,83	8,00		

Keterangan:

EK : Ekstrak Etanol FM : Fraksi Metanol
FK : Fraksi Kloroform C+: Control Positive
FH : Fraksi Heksan C- : Control Negative



Gambar 1. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi kasar pada media bakteri *E.coli*



Gambar 2. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi kasar pada media bakteri *S.aureus*

Diameter yang dihasilkan, diukur menggunakan jangka sorong. Pada bakteri *E.coli* memperlihatkan aktivitas/zona hambat (zona bening) pada fraksi metanol dengan diameter untuk pengulangan pertama 7,38 mm, pengulangan kedua 7.08 mm dan pengulangan terakhir 6.18 mm. Dalam pengujian ini, fraksi metanol adalah yang paling efektif untuk bakteri *E. coli*. Hasil penelitian Renhoran (2012) yang menyatakan, bahwa gram negatif cenderung bersifat sensitif terhadap antibakteri yang bersifat polar. Pada bakteri *S. aureus* semua fraksi memiliki aktivitas antibakteri/zona hambat (daerah bening) di sekeliling cakram. Kelompok bakteri gram positif lebih peka terhadap senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dibanding dengan gram negatif. Perbedaan sensitifitas bakteri gram positif dan bakteri gram negatif dapat disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing-masing bakteri. Dibandingkan dengan antibiotik pembanding ekstrak spons *L. chagosensis*, mempunyai aktivitas zona hambat yang lebih rendah, sehingga senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak ini digolongkan sebagai senyawa/ekstrak yang bersifat lemah (*weak*) menurut kriteria David and Stout (Aditya dkk., 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi etanol sponge *Leucetta chagosensis* memiliki aktivitas menghambat bakteri *Escherichia coli* pada fraksi methanol, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus*, semua ekstrak dan fraksi memiliki aktivitas menghambat bakteri. Semua aktivitas yang

ditunjukkan dikategorikan lemah (*weak*) menurut David and Stout.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada spons *L. chagosensis* tentang uji aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, H., Wahyudi, A.T., Yuhana, M. 2011. Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis sp.* Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. Jurnal Ilmu Kelautan. **16(1)**: 35-40.
- Arini, D. 2017. *Potensi Terumbu Karang Indonesia; Tantangan dan Upaya Konservasinya*. Info BPK Manado.
- Denning, D. 2006 . *Branches on the Tree of Life: Sponges*. From <http://ebiomedica.com/prod/BOspoges.html>. [diakses pada 10 Oktober 2020]
- Fajrina H, Djameludin AM, Habibie MS, Haratanti, Sari RF. 2008. *Potensi Kitosan Sebagai Bahan Antibakteri*. Laporan Akhir PKM, Institut Pertanian Bogor.
- Ismet, M. S. 2017. Penapisan Senyawa Bioaktif Spons *Petrosia sp.* dari Lokasi yang berbeda. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor. Hal 20-21
- Manawan F , Wewengkang D, Wehantouw F. 2014. *Aktivitas Antibakteri Dan Karakterisasi Senyawa Spons Haliclona sp. yang Diperoleh Dari Teluk Manado*. Jurnal Ilmiah. PHARMACON. Farmasi UNSRAT. **3(4)** : 46-49
- Mokodompit, A., Boekoesoe, L. & Mustapa, M. A. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Spons Laut (*Porifera: Demospongiae*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Laporan penelitian; Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo.
- Mpila, D.A. 2012. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mayana (*Coleus atropurpureus benth*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara invitro. [Skripsi] Program Studi Farmasi

- Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Mujihradana, V.N., D. S. Wewengkang.,E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak *Ascidian Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmacon*. **7(3)**: 338-347.
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology, America.
- Pasodung A, Losung F, Angkouw E, Lintang R, Mantiri D, Sumilat D. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Spons *Plakortis sp.* Yang Dikoleksi Dari Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Program Studi Ilmu Kelautan UNSRAT. Vol.1 No (1)
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya. Hal 22