

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACT AND FRACTIONS OF SPONGE  
*Callyspongia aerizusa* FROM THE MANTEHAGE ISLAND WATERS MANADO**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI SPONS *Callyspongia  
aerizusa* DARI PERAIRAN PULAU MANTEHAGE MANADO**

Meldha<sup>1)\*</sup>, Defny S. Wewengkang<sup>1)</sup>, Karlah L.R. Mansauda<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT, 95115

\*melda.dhg@gmail.com

**ABSTRACT**

*Callyspongia aerizusa* is a type of sponge that has a compound with high activity and has a porous body surface structure so that it is included in the phylum of porifera. This study aims to determine the presence of antibacterial activity from the extracts and fractions of *Callyspongia aerizusa* sponge collected from the Mantehage Island waters of the Manado against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The samples were extracted by maceration method using ethanol solvent and fractionated using solvent of methanol, chloroform and n-hexane, respectively. Antibacterial activity testing was carried out using the disc diffusion agar method of Kirby and Bauer with a slight modification. The results showed that the chloroform fraction had antibacterial activity in the strong inhibitory category, while the methanol fraction had antibacterial activity in the moderate inhibitory category.

**Keywords:** *Callyspongia aerizusa*, Antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

**ABSTRAK**

*Callyspongia aerizusa* ialah salah satu jenis spons yang memiliki senyawa dengan aktivitas tinggi dan memiliki struktur permukaan tubuh yang berpori – pori sehingga dimasukkan kedalam filum porifera. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari perairan Pulau Mantehage Manado terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan difraksinasi menggunakan pelarut metanol, kloroform dan n- heksan. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion agar* oleh Kirby dan Bauer dengan sedikit modifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi kloroform memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori daya hambat kuat, sedangkan fraksi metanol memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori daya hambat sedang.

**Kata Kunci :** *Callyspongia aerizusa*, Antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## PENDAHULUAN

Indonesia sebagai Negara dengan keanekaragaman hayati laut yang besar dapat memanfaatkan kekayaan bahari tersebut untuk diteliti dan dikembangkan sebagai bahan dasar obat. Di Sulawesi utara tercatat bahwa 1,33% yang menutupi terumbu karang ialah spons laut (Suraji *et al.*, 2015). Spons menjaga kelangsungan hidup dan pertahanan dirinya dengan menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder (Liem *et al.*, 2019). Kandungan metabolit menangkal dan menghambat bakteri patogen penggangguanya. Hal ini membuat spons menjadi salah satu hewan laut yang menarik untuk diteliti karena berpotensi besar untuk dikembangkan dalam bidang pengobatan yaitu sebagai antibakteri (Suparno, 2005).

*Callyspongia aerizusa* merupakan salah satu jenis spons yang banyak tumbuh di perairan wilayah Indonesia. Isolat dari spons ini dilaporkan memiliki aktivitas antikanker, antimikroba, dan antiparasit (Hanni *et al.*, 2005). *Callyspongia aerizusa* ialah salah satu famili spons yang memiliki senyawa dengan aktivitas tinggi dan memiliki struktur permukaan tubuh yang berpori-pori sehingga dimasukkan kedalam filum porifera (Sari *et al.*, 2014). *Callyspongia aerizusa* menghasilkan metabolit sekunder berupa steroid, alkaloid, flavonoid dan terpenoid yang kedepannya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat (Manggalea *et al.*, 2015).

Penelitian terhadap aktivitas suatu senyawa baik sebagai antibakteri merupakan suatu langkah awal untuk mengetahui kegunaan senyawa tersebut. Adanya senyawa aktif antibakteri dibidang kesehatan merupakan informasi penting untuk penanggulangan suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Dwijendra *et al.*, 2014). Salah satu organisme yang sangat berpotensi sebagai sumber obat antibakteri adalah spons (Schunack *et al.*, 1990).

*Staphylococcus aureus* merupakan koloni yang sering terdapat pada kulit manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai macam infeksi, kronik dan akut (Fetsch, 2017). Dalam perkembangannya, *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap beberapa antibiotik, seperti golongan obat penicillin (WHO, 2014).

*Escherichia coli* adalah bakteri Gram negative yang terdapat pada usus. Bakteri ini

adalah bakteri yang dibutuhkan manusia dalam jumlah tertentu, tetapi dapat juga menimbulkan penyakit dalam jumlah besar. Bakteri ini menyebabkan infeksi saluran kemih, diare terutama pada bayi dan anak, pneumonia, meningitis, dan infeksi luka didalam abdomen (Brooks *et al.*, 2004).

Menanggapi permasalahan diatas peneliti bermaksud untuk menguji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi spons laut *Callyspongia aerizusa* yang diambil dari perairan Pulau Mantehage.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai bulan Maret 2021 di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi.

### Alat dan Bahan

#### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, gunting, pisau, tabung oksigen, snorkel, fins, kertas label, *tissue*, spidol permanen, *zipper lock bag*, botol, talenan, *cool box*, corong, aluminium foil, erlenmeyer, timbangan analitik, *rotary evaporator*, spatula, corong pisah, jarum ose, gelas ukur, gelas kimia, cawan petri, autoklaf, pinset, pembakar spritus, vortex, *micro tubes*, batang pengaduk, *Laminary air flow*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, lemari pendingin, inkubator, kertas cakram (*paper disc*), mikropipet, *digital caliper*.

#### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Spons *Callyspongia aerizusa*, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, etanol 95% *onemed*, metanol *merck*, n-heksan *merck*, kloroform *merck*, aquades *water one*, agar *merck*, pepton *merck*, ekstrak daging (*beef extract*) *merck*, natrium klorida *merck* dan kloramfenikol *paper disc*.

#### Pengambilan Sampel

Sampel Spons *Callyspongia aerizusa* diambil dari perairan Pulau Mantehage

Kabupaten Minahasa Utara dengan menggunakan alat bantu (masker, tabung udara, snorkel dan fins). Sampel difoto kemudian diambil, lalu dimasukkan kedalam *zipper lock bag* dan disimpan didalam *cool box*. Kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi.

### Ekstraksi

Sampel Spons *Callyspongia aerizusa* diekstraksi dengan cara maserasi. Sampel dipotong kecil-kecil lalu dimasukkan kedalam botol dan direndam dengan etanol 95% sampai sampel terendam secara keseluruhan selama 3 kali 24 jam dan setiap 24 jam dilakukan penggantian pelarut. Ketiga filtrat dicampur menjadi satu kemudian disaring, lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kasar Spons *Callyspongia aerizusa*. Kemudian ekstrak ditimbang dengan timbangan analitik, selanjutnya ekstrak yang diperoleh digunakan dalam fraksinasi dan pengujian antibakteri.

### Fraksinasi

Sebanyak 2 gr ekstrak etanol Spons *Callyspongia aerizusa* dimasukkan kedalam Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan metanol 80% sebanyak 100 mL. Setelah sampel larut, sampel dimasukkan kedalam corong pisah lalu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL setelah itu dikocok berulang kali sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk lapisan MeOH dan heksan. Masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan heksan selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering, lalu ditimbang dan ini disebut fraksi heksan. Selanjutnya lapisan MeOH ditambahkan dengan aquades sebanyak 100 mL dipartisi dengan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1 v/v, dikocok dalam corong pisah hingga homogen. Dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan MeOH dan kloroform. Masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform dalam wadah selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang. Ini disebut fraksi kloroform. Lapisan MeOH yang ditampung pada wadah yang lain kemudian dievaporasi menggunakan

*rotary evaporator* hingga kering lalu ditimbang berat sampel. Ini disebut fraksi MeOH. Ketika fraksi tersebut digunakan dalam pengujian antibakteri.

### Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit, pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung dan media disterilkan diautoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

### Pembuatan Media Cair

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (*beef 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 kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil. Media cair siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Ortez, 2005).

### Kultur Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri yang akan dikultur diambil dari lemari pendingin kemudian diambil sebanyak 100 µL kedalam masing-masing tabung reaksi berisi media cair sebanyak 1 mL, kemudian ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Ortez, 2005).

### Pembuatan Media Agar

Pepton 0,5 g, *beef extract* 0,3 g, NaCl 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 siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Ortez, 2005).

### Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan cara 1 mg ekstrak kasar Spons *Callyspongia aerizusa*

dilartukan dalam 200  $\mu$ L metanol dan dikocok hingga homogen menggunakan vortex. Perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol (Ortez, 2005).

### Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif dalam pengujian aktivitas antibakteri ini menggunakan Kloramfenikol *paper disc*. Sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan pelarut metanol, dengan cara membuat larutan stok metanol dengan mengambil sebanyak 200  $\mu$ L metanol kemudian ditotolkan pada *paper disc*.

### Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang 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  $\mu$ L tiap cakram. Sampel yang telah ditentukan konsentrasinya (250  $\mu$ g/50  $\mu$ L) ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Untuk media cair agar yang sudah diautoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu 40°C. Media agar dituangkan ke cawan petri. Diambil 100  $\mu$ L bakteri yang telah dikultur dalam tabung reaksi, dipipet dan diinokulasi pada media agar dan ditunggu sampai media agar mengeras. Masing-masing cawan petri diberi label dan nomor sampel yang sesuai. Diletakkan kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji Spons *Callyspongia aerizusa* dengan pinset didalam cawan petri lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam (Ortez, 2005). Jarak antara *paper disc* dengan *paper disc* yang lain 2 cm dan 2 cm dari tepi *plate* (Bhaskara, 2012).

### Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat

Pengamatan dilakukan setelah 24 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/bunuh. Diameter zona hambat diukur dalam satuan millimeter (mm)

menggunakan jangka sorong dengan cara diukur diameter total zona bening/keruh cakram. Kemudian diameter zona hambat tersebut dikategorikan kekuatan daya anti bakterinya berdasarkan penggolongan (David dan Stout, 1971).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 450 g sampel Spons *Callyspongia aerizusa* diekstraksi dengan metode maserasi, kemudian dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kasar etanol sebanyak 2,58 g lalu diambil sebanyak 2 g untuk difraksinasi. Hasil perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rendemen ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa*

No	Sampel	Massa		Warna
		Ekstrak (g)	Rendemen (%)	
1	Ekstrak Etanol	2,58	0,57	Cokelat pekat
2	Fraksi Kloroform	0,73	36,5	Putih keruh
3	Fraksi n-Heksan	0,37	18,5	Putih keruh
4	Fraksi Metanol	0,75	37,5	Kuning

Setelah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, diperoleh hasil yang dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil pengukuran diameter zona bening ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

	EtOH	ChCl3	n-Hxn	MeOH	C+	C-
	-	13,23	-	10,14		
<b>Ec</b>	-	10,18	-	8,80	28,63	-
	-	11,39	-	8,64		
<b>Jumlah</b>	-	34,8	-	27,58		
<b>Rata-rata</b>	-	11,6	-	9,19		
	-	15,01	-	9,57		
<b>Sa</b>	-	12,67	-	8,31	30,38	-
	-	12,13	-	9,67		
<b>Jumlah</b>	-	39,81	-	27,55		
<b>Rata-rata</b>	-	13,27	-	9,18		

**Keterangan :**

Ec = *Escherichia coli*

Sa = *Staphylococcus aureus*

C+ = Kontrol Positif

C- = Kontrol Negatif

**Ekstraksi**

Sampel Spons *Callyspongia aerizusa* dipotong kecil-kecil dengan ukuran  $\pm 1 \text{ cm}^2$ , ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara sampel dan pelarut semakin besar, sehingga proses ekstraksi dapat berjalan secara optimal (Ncube *et al.*, 2008). Sampel kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena peralatan yang digunakan sederhana dan pengerjaannya yang mudah dilakukan. Proses perendaman sampel pada metode maserasi dapat membuat dinding sel pecah karena adanya perbedaan konsentrasi didalam dan diluar sel, sehingga senyawa yang terdapat didalam sampel dapat tertarik oleh pelarut. Konsentrasi diluar sel lebih tinggi dari konsentrasi didalam sel, sehingga dinding sel menjadi pecah karena tidak dapat menahan tekanan dari perbedaan konsentrasi (Harborne, 1987).

Sampel Spons *Callyspongia aerizusa* dimaserasi menggunakan etanol 95%, karena etanol merupakan larutan penyari yang bersifat universal, tidak toksik, mudah didapat dan selektif sehingga penyarian menggunakan etanol diharapkan dapat menarik semua senyawa yang bersifat polar maupun non polar yang

terkandung didalam sampel (Oeiyoano *et al.*, 2019).

Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan setiap 24 jam ekstrak disaring dan dimaserasi kembali dengan menggunakan pelarut yang baru, hal ini disebut dengan remaserasi. Remaserasi dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan penyarian yang maksimal (Khopkar, 2008).

Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Suhu 40°C bertujuan untuk tetap menjaga senyawa bioaktif yang terdapat didalam filtrat karena biasanya senyawa bioaktif tidak tahan terhadap suhu pemanasan yang tinggi (Kowal *et al.*, 2018). Setelah dievaporasi diperoleh ekstrak kasar etanol sebanyak 2,58 g.

**Fraksinasi**

Setelah diperoleh ekstrak kasar dari proses maserasi, selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan metode fraksinasi cair-cair yang merupakan metode pemisahan dengan menggunakan dua pelarut dalam satu corong pisah sehingga senyawa tidak saling bercampur karena memiliki sifat kepolaran yang berbeda (Watupongoh *et al.*, 2019). Pelarut yang digunakan pada proses fraksinasi yaitu n-heksan, kloroform, dan

metanol. Pelarut n-heksan untuk melarutkan senyawa yang bersifat non polar, pelarut kloroform untuk melarutkan senyawa yang bersifat semi polar dan pelarut metanol untuk melarutkan senyawa yang bersifat polar (Pitoy *et al.*, 2019). Proses fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yaitu mulai dari pelarut non polar, selanjutnya semi polar dan terakhir pelarut polar (Engka, 2016). Pada saat proses fraksinasi akan terbentuk 2 lapisan pelarut, dimana pelarut dengan massa jenis yang lebih besar akan berada dibagian bawah dan pelarut dengan massa jenis yang lebih kecil akan berada dibagian atas.

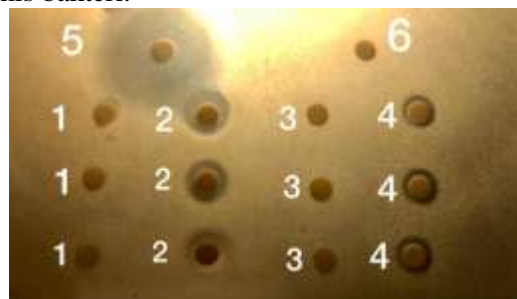
Massa fraksi serta rendemen yang dihasilkan dari proses fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil fraksinasi yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi metanol memiliki rendemen yang lebih besar yaitu 37,5% dibandingkan fraksi n-heksan dan fraksi kloroform. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat banyak komponen senyawa yang bersifat polar dalam sampel Spons *Callyspongia aerizusa*. Perbedaan nilai rendemen ini disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang berbeda akan melarutkan senyawa-senyawa yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya. Oleh sebab itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan tergantung jenis pelarutnya (Mujipradana *et al.*, 2018).

### Pengujian Aktivitas Antibakteri

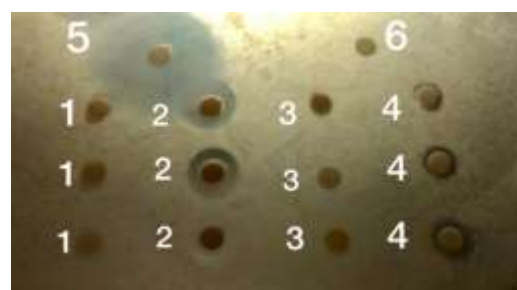
Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar (*Disk diffusion Kirby and Bauer* yang telah dimodifikasi). Metode difusi agar merupakan metode yang dilakukan dengan pengukuran dan pengamatan diameter zona bening yang terbentuk disekitar cakram yang berisi zat antibakteri yang diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi bakteri (Lalamentik, 2017).

Pengujian dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* yang mewakili bakteri Gram negatif dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri Gram positif. Penggunaan kedua jenis bakteri ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* memiliki aktivitas antibakteri, serta untuk mengetahui spektrum aktivitas antibakteri apakah memiliki spektrum

luas yang dapat membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif, atau memiliki spektrum sempit yang hanya dapat membunuh salah satu jenis bakteri.



Gambar a. Hasil pengujian pada *Escherichia coli*



Gambar b. Hasil pengujian pada *Staphylococcus aureus*

**Ket :** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* : (a) *Escherichia coli*, (b) *Staphylococcus aureus*, (1) Ekstrak Etanol, (2) Fraksi Kloroform, (3) Fraksi n - Heksan, (4) Fraksi Metanol, (5) Kontrol Positif, (6) Kontrol Negatif.

Hasil yang diperoleh ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling cakram (*paper disc*) yang berukuran 6 mm, hal ini menunjukkan bahwa adanya kepekaan bakteri terhadap ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa*. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C dengan tiga kali pengulangan pada masing-masing ekstrak dan fraksi.

Pengulangan dilakukan untuk mengakuratkan hasil yang diperoleh (Mujipradana *et al.*, 2018). Pada pengujian aktivitas antibakteri ini, penggolongan daya hambat dari kontrol uji dan bahan uji Spons *Callyspongia aerizusa* digolongkan berdasarkan kriteria kekuatan daya antibakteri menurut

David dan Stout (1971) yang ditunjukkan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Kategori kekuatan daya antibakteri

Diameter Zona Bening (mm)	Kategori
> 20	Sangat Kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
< 5	Lemah

Dalam pengujian ini, digunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding. Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol *paper disc* karena kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang dapat membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji dengan membandingkan diameter daerah hambat yang terbentuk (Dwijendra *et al.*, 2014). Hasil yang diperoleh menunjukkan Kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap bakteri uji dibandingkan ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa*. Diameter zona hambat yang dihasilkan kloramfenikol pada bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 28,63 mm dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 30,38 mm.

Kontrol negatif yang digunakan pada pengujian ini adalah metanol. Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metanol digunakan sebagai kontrol negatif karena pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak dan fraksi adalah metanol. Hasil yang diperoleh kontrol negatif tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri uji, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas yang ditimbulkan oleh ekstrak dan fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* adalah murni dari senyawa yang terkandung didalamnya dan bukan dari pelarut yang digunakan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, pada ekstrak etanol tidak terdapat zona bening yang terbentuk disekitar cakram baik pada bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa pada

ekstrak etanol Spons *Callyspongia aerizusa* tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Pada fraksi kloroform menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram pada bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*, masing-masing dikategorikan kuat dengan rata-rata diameter zona bening masing-masing 11,6 mm dan 13,27 mm. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat dalam fraksi kloroform memiliki aktivitas antibakteri dan berspektrum luas karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif.

Pada fraksi n-heksan tidak menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram baik pada bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat dalam fraksi n-heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Pada fraksi metanol menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram pada bakteri *coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*, masing-masing dikategorikan sedang dengan rata-rata diameter zona bening masing-masing 9,19 mm dan 9,18 mm. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat dalam fraksi n-heksan memiliki aktivitas antibakteri dan memiliki spektrum luas karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan bahwa sampel Spons *Callyspongia aerizusa* hanya memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi kloroform dan fraksi metanol dengan kategori kuat dan sedang yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram. Terbentuknya zona bening dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif yang terdapat didalam Spons *Callyspongia aerizusa*. Berdasarkan penelitian Krisyuninda (2012), didapatkan adanya kandungan senyawa steroid, alkaloid, flavonoid dan terpenoid didalam Spons *Callyspongia aerizusa*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sampel Spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil dari perairan Pulau Mantehage hanya memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi kloroform dengan kategori daya

hambat kuat dengan rata-rata diameter zona bening 11,6 pada bakteri *Escherichia coli* dan 13,38 pada bakteri *Staphylococcus aureus*, serta pada fraksi metanol dengan kategori daya hambat sedang dengan rata-rata diameter zona bening 9,19 pada bakteri *Escherichia coli* dan 9,18 pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung didalam Spons *Callyspongia aerizusa* terlebih khusus pada fraksi kloroform serta uji aktivitas lainnya untuk mengetahui manfaat lain selain antibakteri.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bhaskara, I.B.M., Ketut, B. dan Ketut T.P.G. 2012. Uji Kepekaan *Escherichia coli* sebagai Penyebab Kolibasilosis pada Babi Muda terhadap Antibiotika Oksitetrasiklin, Streptomisin, Kenamisin dan Gentamisin. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2: 186-201.
- Brooks, G.F., Carrol, K.C., Butel, J.S., dan Morse, S.A. 2004. *Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology*. London: McGraw-Hill Medical.
- David, W.W., T.R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. 22: 659-665.
- Dwijendra, I.M., D. S. Wewengkang., dan F. Wahentou. 2014. Aktivitas Antibakteri dan Karakterisasi Senyawa Fraksi Spons *Lamellodysidea herbacea* yang diperoleh dari Teluk Manado. *Pharmacoon*. 3(4):1-9.
- Engka, T. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Total Fenolik dan Flavonoid dari Umbi Kuso Mafola (*Drynaria quercifolia* L.) [skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Fetsch, A. 2017. *Staphylococcus aureus*. Germany: Academic press.
- Hanni, E., Munim A., Sekarini R. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam Spons *Callyspongia sp.* dari kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(1): 27-33.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi Kedua. Diterjemahkan oleh Kosashi Padmawinata dan Iwang Soedira. Bandung: ITB Press.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI press.
- Kowal, A., Esther, A., Nickson, K., Kurniati, K., Henky, M., Deiske, H. 2018. Potensi antibakteri karang lunak *lobophytum sp.* Dari perairan pangalisang pulau bunaken terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Platax*. 6(2).
- Krisyuninda, M. 2012. Uji toksisitas fraksi spons *Callyspongia sp* dengan metode shrimp test dari perairan pasir putih situbondo. Surabaya : Institut Teknologi Sepuluh November.
- Lalamentik, G. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Klyxum sp.* yang Diperoleh dari Teluk Manado. [Skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Liem, J.W., Robert A.B., Deiske A.S. 2019. Bioprospeksi Antibakteri beberapa jenis Spons dari Perairan Pangalisang Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 1(1):7-12.
- Manggalea, F.P., J. Posangi, M.P. Wowor, Bara R. 2015 Uji Efek Antibakteri Jamur Endosimbion Spons Laut terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. *Ebm*. 3(1): 277.



- Mujihradana, V.N., D. S. Wewengkang., dan E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak Ascidian *Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmaccon*. 7(3): 338-347.
- Ncube, N.S., Afolayan, A.J., Okoh, A.I. 2008. Assesement Techniques of Antimicrobial Properties of Natural Compounds of Plant Origin: Current Methods and Future Trends. *Africa Journal of Biotechnology*. 7(12): 30-32.
- Oeiyoano, W.E., Herny, E.S., Henky, R., 2019. Uji aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi Spons *Liosina paradoxa* dari perairan desa tumbak Minahasa tenggara terhadap pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan *Candida albicans*. *Pharmaccon*. 8(5): 629-638.
- Ortez, J.H. 2005. *Disk Diffusion Testing in Manual of Antimicrobial Susceptibility*. Marie B. Coyle (Coord.Ed). American society for Microbiology.
- Pitoy, N.A, Adithya, Y., Defny, W. 2019. Uji antimikroba ekstrak dan fraksi Tunikata *Didemnum molle* terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans* yang dikoleksi di Selat Lembeh Bitung. *Pharmaccon*. 8(5) : 275-283.
- Sari, N.I., Ahmad A., Dali S. 2014. *Isolasi dan karakterisasi protein bioaktif dari spons Callyspongia sp. sebagai zat antioksidan*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Schunack, W., Mayer K., Haake M. 1990. *Senyawa obat*. Penerjemah Wattimena J.R. dan Subito. Yogyakarta: UGM Press.
- Suparno. 2005. *Kajian Bioaktif Spons Laut (Porifera: Demospongiae) Suatu Peluang alternative pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia dalam bidang Farmasi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Suraji, Rasyid N, Kenyo A.S., et al. 2015. *Profil kawasan konservasi Provinsi Sulawesi Utara*. Jakarta: Kementrian Kelautan dan Perikanan.
- Watupongoh, C.C.A, Defny, S.W, Henki, R. 2019. Aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi organisme laut Spons *Stylissa carteri* yang dikoleksi dari perairan Selat Lembeh kota Bitung. [Skripsi]. Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Sam Ratulangi Manado.
- WHO. 2014. *Antimicrobial Resistance : Global Report on Surveillance*. Switzerland: World Health Organization.