

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Spons *Stylissa carteri* dari Teluk Manado, Sulawesi Utara

(Antibacterial Activity of *Stylissa carteri* Sponge Extract from Manado Bay, North Sulawesi)

Irpan Palungan¹, Robert A. Bara², Remy E.P. Mangindaan², Kurniati Kemer², Stenly Wullur², Unstain N.W. Rembet^{2*}

¹Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado-Sulawesi Utara, Indonesia

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado-Sulawesi Utara, Indonesia

*Corresponding Author, irfanpalungan99@gmail.com

Abstract

Marine sponges contain secondary metabolites with unique chemical structures and very interesting pharmacological activities, such as antibacterial, anticancer, antiviral and others to be developed as candidate drugs, so this study aims to examine the antibacterial activity of extracts and fractions of *Stylissa carteri* sponge fractions as well as testing the *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) and *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) values. The method used in testing the antibacterial activity is the agar diffusion method (*Disc Diffusion Kirby Bauer Method*). The presence of antibacterial activity was indicated by the formation of a clear zone around the paper disc after incubation for 24 hours. The results showed that antibacterial activity of *S. carteri* sponge extract tested on *Bacillus megaterium* DSM32T bacteria revealed to be the strongest inhibition zone of 21 mm. Further testing on the extract fraction of *S. carteri* showed that the semipolar fractions showed strong activity against the *B. megaterium* while the polar fraction was categorized as moderate action, the non-polar fraction showed no activity against the bacteria. The determination of the MIC and MBC values was obtained at 500 ppm and 1000 ppm respectively.

Keywords: Antibacterial; *Stylissa carteri*; *Bacillus megaterium*; Manado Bay

Abstrak

Spons laut memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder struktur kimia yang unik dan aktivitas farmakologis yang sangat menarik, seperti antibakteri, antikanker, antivirus dan lain-lain untuk dikembangkan sebagai kandidat bahan obat-obatan, sehingga penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri pada ekstrak dan fraksi-fraksi spons *Stylissa carteri* serta pengujian nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) serta *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Metode yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri yaitu metode difusi agar (*Disc Diffusion Kirby Bauer Method*). Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram setelah diinkubasi selama 1x24 jam. Hasil pengujian memperlihatkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak spons *S. carteri* yang diuji pada bakteri *Bacillus megaterium* DSM32T dengan zona hambat yang paling kuat sebesar 21 mm. Pengujian lanjut pada fraksi ekstrak *S. carteri* didapatkan fraksi semipolar memperlihatkan aktivitas yang kuat pada bakteri uji *B. megaterium* sedangkan fraksi polar dikategorikan sedang, sedangkan fraksi non-polar tidak memperlihatkan aktivitas antibakteri. Penentuan nilai MIC didapatkan pada konsentrasi 500 ppm dan nilai MBC berada pada konsentrasi 1000 ppm.

Kata Kunci: Antibakteri; *Stylissa carteri*; *Bacillus megaterium* DSM32T; Teluk Manado

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan terbesar di dunia yang yang terletak di kawasan tropis menjadikan

<http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax>

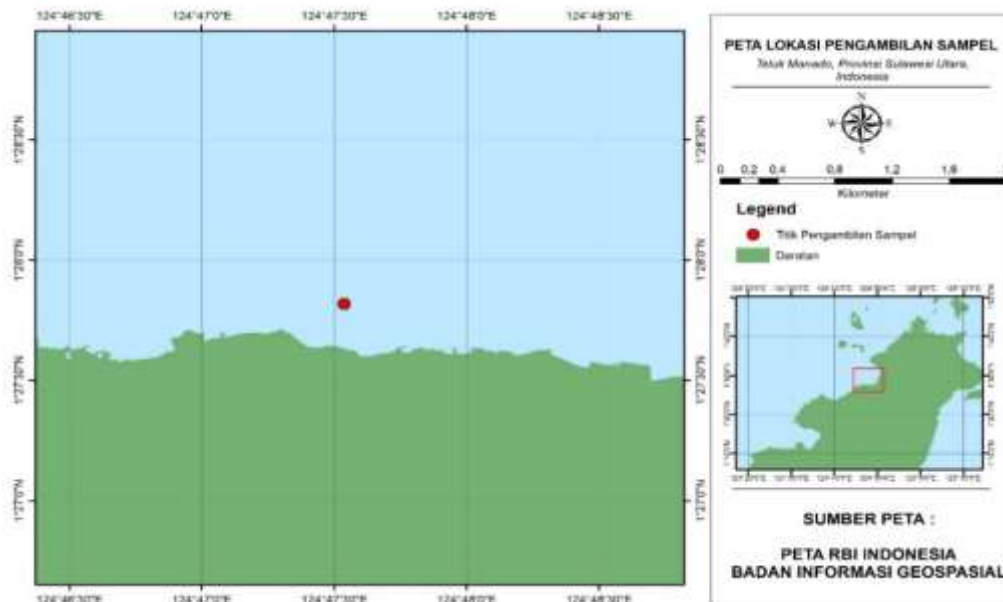
Indonesia memiliki keanekaragaman hayati tinggi yang bukan hanya sebagai sumber makanan, tetapi dapat juga dikembangkan sebagai bahan obat-obatan. Karena

keanekaragaman hayati yang sangat tinggi, maka terjadi kompetisi antar spesies untuk bertahan hidup. Kondisi seperti itu membuat berbagai jenis biota laut, salah satunya spons, mensintesa metabolit sekunder yang bersifat toksik sebagai alat pertahanan diri melawan infeksi bakteri, fungi dan virus (Gudbjarnason, 1999; Sumaryono, 2004), dan juga melawan predasi maupun persaingan antar mereka sendiri untuk mempertahankan wilayah pertumbuhannya (Kerr, 2003 dalam Widjhati, dkk., 2004). Kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh organisme laut menarik perhatian para peneliti, karena senyawa-senyawa tersebut memiliki struktur kimia yang unik dan aktivitas farmakologis yang sangat menarik, seperti antibakteri, antikanker, antiinflamasi, antivirus, antifouling dan menghambat aktivitas enzim (Jiang, dkk. 2012; Kornprobst, 2010; Newman dan Cragg, 2012; Diyabalanage, dkk. 2012., Fattorusso, dkk., 2012).

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif, sehingga menjadikan spons target yang sangat

menarik karena keanekaragamannya yang tinggi dan unik dan spons juga menduduki tempat teratas sebagai sumber substansi aktif (Blunt, dkk., 2012). Keberadaan metabolit bioaktif pada organisme sesil seperti spons ini juga merefleksikan adaptasi ekologi yang terbentuk selama proses evolusi yang panjang sebagai mekanisme pertahanan diri organisme ini dengan lingkungannya yang berupa perlawanan terhadap faktor-faktor predasi, kompetisi dan infeksi terhadap bakteri patogen (Proksch dkk., 2003).

Spons asal perairan tropis seperti di Indonesia memiliki potensi yang sangat menjanjikan sebagai sumber senyawa bioaktif baru untuk dikembangkan menjadi komoditas bernilai ekonomis tinggi seperti bahan obat-obatan (Widjhati dkk., 2004). Telah dilaporkan sebagian senyawa yang diisolasi dari spons mempunyai bioaktivitas yang tinggi sehingga dapat dikembangkan sebagai kandidat bahan obat antibakteri, antikanker dan antiparasit (Amir dan Budiyo, 1996). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah spons yang diambil dari Teluk Manado memiliki aktivitas antibakteri.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel di Teluk Manado, Sulawesi Utara.

METODE

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel spons dilakukan di Teluk Manado, Sulawesi Utara

<http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax>

dengan titik koordinat 124°47'31" BT dan 1°27'47"LU (Gambar 1.) Spons diambil menggunakan bantuan alat selam atau SCUBA pada kedalaman sekitar 6–8 meter. Pengambilan sampel spons

dilakukan dengan cara memotong menggunakan pisau langsung dari substratnya dan dimasukkan kedalam plastik klip. Setelah pemotretan, sampel dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado, dan disimpan dalam lemari pendingin bersuhu -20oC untuk proses lanjut.

Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel spons dilakukan dengan cara melihat morfologi sampel mulai dari bentuk warna dan tekstur yang terdapat pada tubuh sampel. Pengamatan morfologi sampel spons dipandu oleh buku *Tropical Pasific Intervebrates* (Colin dan Charles 1995). Selanjutnya dibandingkan dengan gambar spons dalam referensi dan situs web WoRMS (<http://www.marinespecies.org/>) dan juga penulis dibantu oleh Prof. Dr. NJ de Voogd, dari Leiden University (De Voogd, 2021).

Ekstraksi

Sampel spons diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Sampel spons dibilas dengan air tawar terlebih dahulu kemudian dipotong-potong kecil menggunakan pisau lalu dimasukkan ke botol dan diberi label. Sampel spons dimaserasi secara dinamik dengan pelarut etil asetat. dan perbandingan 1:3 selama 24 jam pada suhu kamar. Ekstrak kemudian disaring dan dievaporasi dengan menggunakan rotary vacuum evaporator pada temperatur 40oC, Sehingga diperoleh ekstrak kasar untuk digunakan dalam pengujian awal (*screening*) aktivitas antibakteri dari spons uji.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan dan bahan yang digunakan pada penelitian ini disterilisasi untuk menghindari kontaminasi mikroba yang tidak diinginkan. Untuk bahan seperti media *Nutrient Agar* (NA), Media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA), disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121oC selama \pm 15 menit. Untuk peralatan seperti cawan petri, tabung reaksi, dan sebagainya terlebih dahulu dicuci, kemudian disterilisasi menggunakan oven pada suhu 160oC selama \pm 2 jam.

<http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax>

Uji Antibakteri

Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Sebanyak 2,84 g nutrient agar dilarutkan dalam 100 ml aquades. Media dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml per tabung. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit dan dibiarkan mengering dengan kemiringan 15°.

Pembuatan media Cair *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain Heart Infusion sebanyak 3,7 g BHI dilarutkan dengan 100 ml akuades dalam erlenmeyer. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit.

Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Ditimbang sebanyak 3,8 g MHA dilarutkan dengan 100 ml aquades. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121oC selama 15 menit. Kemudian media dituang ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml per cawan.

Kultur Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan yaitu *Bacillus megaterium* DSM32T (Gram positif) dan *Escherichia coli* DSM498 (Gram negatif). Kedua isolat bakteri ini berasal dari *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen* (DSMZ), *Braunschweig*, Jerman. Masing-masing diambil sebanyak 1 ose kemudian digoreskan pada permukaan media NA miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37oC dalam inkubator. Bakteri yang telah tumbuh pada media agar miring selanjutnya dikultur kembali dalam media BHI, dengan cara mengambil dengan jarum ose selanjutnya dipindahkan pada media BHI. Setelah pada pemindahan bakteri pertama, jarum ose kembali dibakar untuk mensterilkan kembali dan digunakan lagi untuk pemindahan bakteri kedua dan seterusnya lakukan hal yang sama. Setelah pemindahan pada media BHI, selanjutnya diinkubasi lagi selama 24 jam pada suhu 37oC di dalam inkubator.

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Amoxilin dengan konsentrasi (1 mg/ml) digunakan sebagai kontrol positif

sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan akuades.

Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri yaitu metode difusi agar (*Disc Diffusion Kirby Bauer Method*). Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Konsentrasi awal ekstrak sampel spons ditentukan terlebih dahulu sebesar 100 mg/ml. Konsentrasi bakteri *B. megaterium* dan *E. coli* menggunakan spektrofotometer dengan didapatkan dengan bantuan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang $\lambda = 600$ nm. dengan $OD_{600}=1$ setara dengan konsentrasi bakteri 1×10^8 sel/ml.

Pada tahap pengujian awal yaitu masing-masing bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam dipindahkan ke media MHA menggunakan mikropipet kemudian digoyang-goyang lalu dituang ke cawan petri yang telah disiapkan. Selanjutnya kertas cakram dengan diameter 6 mm ditetesi larutan ekstrak pekat *S. carteri* sebanyak 10 μ l, begitu juga untuk kontrol positif dan kontrol negatif, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Ortez, 2005). Zona bening yang terlihat setelah inkubasi 24 jam diukur dengan menggunakan kaliper. Penggolongan kriteria kekuatan suatu bahan antibakteri, yakni diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5 - 10 mm dikategorikan sedang, sedangkan diameter zona hambat 10 - 20 mm dikategorikan kuat dan diameter zona hambat yang melebihi dari 20 mm dikategorikan sangat kuat (Davis dan Stout, 1971). Ekstrak spons yang menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat dilanjutkan dengan partisi untuk melihat di mana fraksi aktif dari ekstrak spons *S. carteri* tersebut.

Partisi

Ekstrak dari sampel spons yang memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dipartisi menggunakan pelarut etanol, etil asetat, oktana dan air dengan hasil akhir dari partisi ini diperoleh 3 fraksi, yaitu fraksi air (polar), fraksi etanol (semipolar) dan fraksi oktana (nonpolar). Ekstrak pekat dilarutkan dengan menggunakan pelarut

etil asetat sebanyak 50 ml. Ekstrak ini kemudian dipindahkan ke dalam corong pisah. Perbandingan pelarut dalam corong pisah adalah (1:1), kemudian corong pisah dikocok-kocok sehingga kedua pelarut tercampur dengan baik lalu didiamkan sampai terlihat dua lapisan. Ketika kedua pelarut telah terpisah, tutup corong pisah dibuka dan kran corong pisah dibuka perlahan-lahan. Pelarut yang paling bawah ditampung pada erlenmeyer, selanjutnya pelarut yang berada di atas yaitu fraksi air (polar) ditampung ke dalam erlenmeyer yang berbeda. pelarut yang dibagian bawah selanjutnya dievaporasi. Kegiatan partisi selanjutnya dilakukan dengan menuangkan hasil evaporasi pelarut yang di bagian bawah kedalam corong pisah ditambahkan pelarut etanol 70 ml dan oktana (polar) 50 ml sampai terlarut dengan baik, kemudian ditambahkan lagi 15 ml air. Corong pisah dikocok-kocok sehingga kedua pelarut bercampur dengan baik lalu didiamkan sampai terlihat dua lapisan. Ketika kedua pelarut telah terpisah, tutup corong pisah dibuka dan kran corong pisah dibuka perlahan-lahan. Pelarut yang paling bawah ditampung pada erlenmeyer sehingga didapatkan fraksi etanol (semipolar), selanjutnya pelarut yang berada di atas fraksi etanol yaitu fraksi oktana (nonpolar) ditampung ke dalam erlenmeyer yang berbeda dilanjutkan dengan menguapkan kedua fraksi tersebut dengan menggunakan evaporator. Ketiga fraksi kemudian diuji kembali aktivitas antibakterinya untuk melihat di mana fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri mengikuti prosedur uji yang telah dijelaskan sebelumnya. Selanjutnya fraksi aktif diuji lanjut mengikuti prosedur uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC).

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC).

Konsentrasi ekstrak minimum yang menghambat pertumbuhan bakteri dilakukan sebagai berikut : Konsentrasi awal fraksi aktif ditentukan terlebih dahulu (100 mg/ml=100.000 ppm). Pertama dibuat suatu seri pengenceran fraksi yang menunjukkan aktivitas antibakteri mulai

dari 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm, 15,62 ppm, 7,81 ppm, dan 3,90 ppm serta 1 tabung sebagai kontrol. Suspensi bakteri *B. megaterium* uji (1×10^3 sel/ml) ditambahkan ke dalam media cair *Brain Heart Infusion (BHI) Broth* lalu di goyang-goyang. Selanjutnya bakteri yang di BHI akan diambil sebanyak 4 ml menggunakan mikropipet kemudian di masukkan ke dalam tabung reaksi yang 1000 ppm dan diambil lagi 2 ml bakteri yang di BHI untuk masing-masing tabung yang 500 sampai ke 3,90 ppm. Kemudian tabung 1000 ppm ditambahkan fraksi aktif 40 μ l, lalu dari tabung 1000 ppm diambil sebanyak 2 ml lalu dipindahkan ke tabung 500 ppm, lalu dari tabung 500 ppm diambil lagi 2 ml dipindahkan ke tabung 250 begitupun seterusnya sampai pada tabung 3,90 ppm sedangkan untuk kontrol diambil sebanyak 2 ml bakteri dari BHI tanpa ditambahkan fraksi aktif. Kemudian semua tabung diinkubasi selama 1 x 24 jam pada temperatur 37oC. Pengamatan dilakukan pada setiap tabung perlakuan, jika tabung

yang tidak keruh maka itu yang diteruskan ke pengujian MBC dan tabung tabung pertama yang tidak keruh itu dianggap sebagai konsentrasi penghambatan minimum (MIC). Namun demikian penghambatan belum berarti mematikan semua bakteri. Untuk itu dilakukan pengecekan untuk semua tabung yang tidak keruh. Dari tabung-tabung yang tidak keruh diambil cuplikan (1 tetes) dan digores pada media agar (NA) lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37oC. Setelah diinkubasi, diamati dengan melihat langsung jika tidak ada bakteri yang tumbuh maka itu ditentukan sebagai nilai MBC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel di Lapangan

Pengambilan sampel dilakukan pada siang hari sekitar pukul 11:00 – 15:00 WITA pada kedalaman 6 – 8 m dengan temperatur 29oC. Berikut sampel spons yang telah didapatkan yaitu *Stylissa carteri* (Gambar 2.).

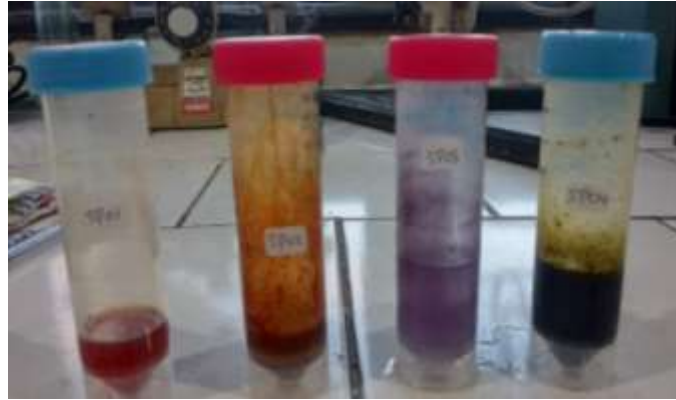


Gambar 2. Sampel *Stylissa carteri*.

Ekstraksi Maserasi

Sampel spons diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etil asetat, kemudian

dievaporasi sehingga didapatkan hasil ekstrak kasar untuk sampel spons *Stylissa carteri* (Gambar 3.).



Gambar 3. Hasil ekstraksi sampel spons *Stylissa carteri*.

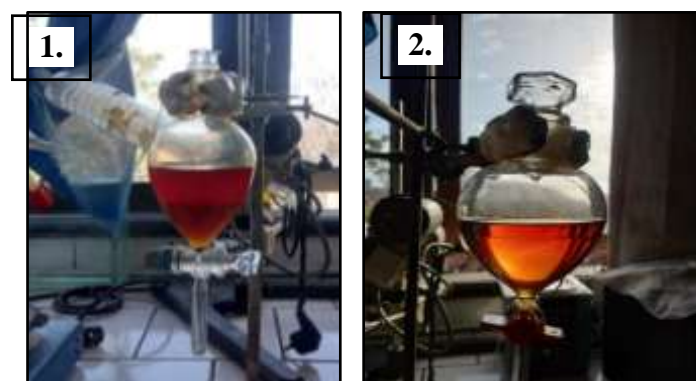
Aktivitas Antibakteri Pada Bakteri *Bacillus megaterium* DSM32T dan *Escherichia coli* DSM498.

Setelah dilakukan pengujian dari ekstrak spons *Stylissa carteri* pada bakteri *Bacillus megaterium* didapatkan rata-rata zona hambatnya 21,00 mm sedangkan untuk bakteri *Escherichia coli* didapatkan rata-rata zona hambatnya 18,00 mm. Ekstrak spons *S. carteri* yang diuji pada bakteri *B. megaterium* memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong sangat kuat dibandingkan dengan yang diuji pada *E. coli* yang tergolong kuat, berdasarkan penggolongan kriteria kekuatan suatu bahan antibakteri menurut (Davis dan Stout, 1971). Ekstrak spons *S. carteri* yang diuji pada bakteri *B. megaterium* menunjukkan aktivitas antibakteri yang

sangat kuat dilanjutkan dengan partisi untuk melihat di mana fraksi aktif dari ekstrak spons tersebut.

Partisi

Ekstrak spons *S. carteri* yang menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat kuat di partisi untuk mendapatkan 3 fraksi. Proses partisi pertama yaitu untuk mendapatkan fraksi Polar (air) sedangkan untuk proses partisi kedua yaitu untuk mendapatkan fraksi semipolar (etanol) dan nonpolar (oktana) dapat dilihat pada (Gambar 4.) Untuk hasil fraksi yang telah didapatkan yaitu fraksi air (polar), fraksi etanol (semipolar) dan fraksi oktana (nonpolar) dapat dilihat pada (Gambar 5.).



Gambar 4. Proses partisi pertama (1) dan proses partisi kedua (2).



Gambar 5. Hasil fraksi air (a), fraksi etanol (b), dan fraksi oktana (c).

Selanjutnya ketiga fraksi tersebut diuji untuk melihat difraksi mana yang memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *B. megaterium*.

Pada pengamatan yang telah dilakukan ketiga fraksi yang diuji pada

bakteri *B. megaterium* (Gambar 6.) dengan 3 kali ulangan, fraksi air (polar) dan etanol (semipolar) menunjukkan adanya zona hambat sedangkan fraksi oktana (nonpolar) tidak menunjukkan zona hambat.



Gambar 6. Hasil pengamatan fraksi air, etanol dan oktana bakteri *Bacillus megaterium*.

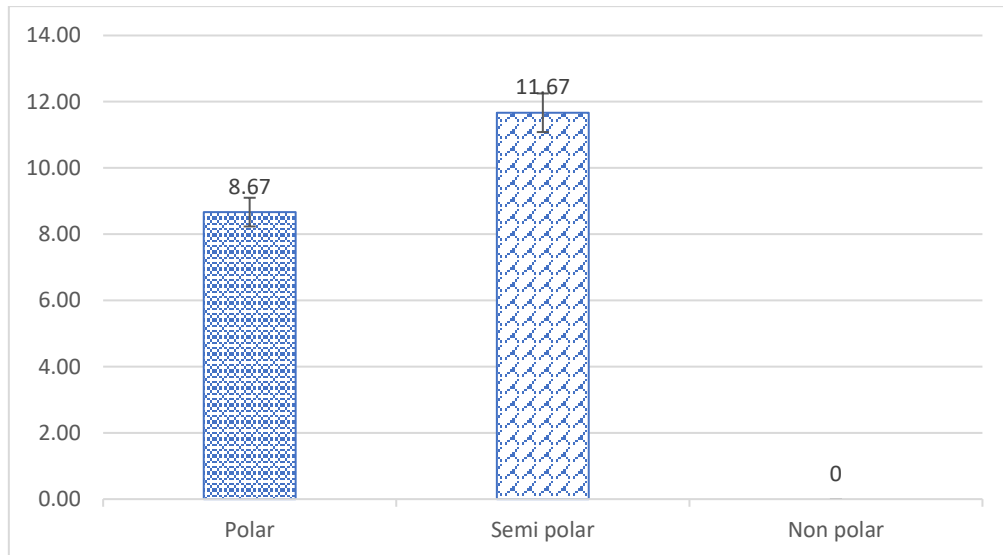
Ket : 1 : fraksi air (polar)
2 : fraksi etanol (semipolar), dan
3 : fraksi oktana (nonpolar).

Hasil pengukuran diameter zona hambat aktivitas antibakteri pada bakteri *B. megaterium* (Tabel 1.) untuk fraksi polar menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (9 mm), ulangan II (8 mm) dan ulangan III (9 mm) dengan rata-rata (8,67). Untuk fraksi semipolar menunjukkan diameter zona hambat pada ulangan I (12 mm), ulangan II (11 mm) dan ulangan III (12 mm) dengan rata-rata (11,67 mm). Untuk nonpolar tidak menunjukkan diameter zona hambat pada ketiga ulangan.

Berdasarkan rata-rata zona hambat pada bakteri *B. megaterium* (Gambar 7.) untuk fraksi polar menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 8,67 mm, fraksi semipolar menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 11,67 mm. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi polar memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong sedang sedangkan fraksi semipolar memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong kuat.

Tabel 1. Diameter zona hambat pada bakteri *Bacillus megaterium* DSM32T.

Pengamatan 1 x 24 jam Fraksi	<i>Bacillus megaterium</i> DSM32T Zona Hambat				
	Ulangan 1 (mm)	Ulangan 2 (mm)	Ulangan 3 (mm)	Rata-rata	stdev
Polar (air)	9	8	9	8,67	0,58
Semipolar (etanol)	12	11	12	11,67	0,58
Nonpolar (oktana)	0	0	0	0	0



Gambar 7. Rata-rata zona hambat ekstrak spons pada bakteri *Bacillus megaterium*.

Penelitian Watupongoh *dkk* (2019) menggunakan sampel spons *S. carteri* yang dikoleksi dari Perairan Selat Lembeh Kota Bitung, pengujian fraksi kloroform, metanol dan n-heksana memperlihatkan aktivitas antibakteri hanya pada fraksi metanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi metanol memiliki spektrum kerja yang luas dalam menghambat aktivitas antimikroba dengan bakteri *S. aureus*, dan *E. coli*.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ini pada ketiga fraksi diatas terhadap bakteri *B. megaterium* maka fraksi semipolar dikategorikan memiliki aktivitas yang kuat dengan diameter rata-rata (11,67 mm) dan dikategorikan kuat. Fraksi semipolar ini yang dilanjutkan ke pengujian MIC dan MBC.

Pengujian *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dan *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)*.

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dari fraksi semipolar (Gambar 8.) ditunjukkan pada konsentrasi 500 ppm dibuktikan pada (Gambar 9.) dimana konsentrasi 500 masih tumbuh bakteri pada media agar. Pada tabel 2 ditunjukkan untuk tabung yang keruh (konsentrasi 250 - 3,9 ppm) dan yang tidak keruh (konsentrasi 500 dan 1000 ppm) dimana tabung yang keruh menandakan bahwa bakteri masih tumbuh pada tabung tersebut sedangkan tabung yang tidak keruh menandakan bahwa pertumbuhan bakteri sudah mulai dihambat oleh fraksi semipolar, Sedangkan kontrol yang tidak diberi ekstrak menunjukkan bakteri dapat tumbuh pada tabung tersebut.



Gambar 8. Hasil pengujian *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* dari fraksi semipolar.

Tabel 2. Pengelompokkan tabung yang keruh dan tidak keruh.

Nomor Tabung	Konsentrasi (ppm)	Keruh	Tidak Keruh
1.	1000		√
2.	500		√
3.	250	√	
4.	125	√	
5.	62,5	√	
6.	31,2	√	
7.	52,6	√	
8.	7,81	√	
9.	3,90	√	
10.	kontrol	√	

Hasil pengamatan nilai MIC kemudian dilanjutkan dengan uji MBC untuk melihat nilai konsentrasi ambang batas terbunuhnya bakteri uji Minimum

Bactericidal Concentration (MBC) (Gambar 9.) menyajikan hasil pengujian MBC dari fraksi aktif ekstrak spons *Stylissa carteri*.

Gambar 9. Hasil pengujian *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dari fraksi semipolar.

Berdasarkan hasil pengujian penentuan nilai *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dari fraksi semipolar (Gambar 9.) ditunjukkan pada konsentrasi 1000 ppm hal ini dibuktikan dengan tidak adanya koloni bakteri yang tumbuh pada media agar sedangkan konsentrasi 500 ppm masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri uji baik pada ulangan I dan II.

Suatu antimikroba bersifat bakteriostatik jika senyawa antimikroba tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri jika pemberian senyawa terus dilakukan dan jika dihentikan atau habis, maka pertumbuhan dan perbanyakkan dari bakteri kembali meningkat yang ditandai dengan berkurangnya diameter zona hambatan. Sebaliknya bersifat bakterisid jika diameter zona hambatan meningkat, hal ini disebabkan karena senyawa ini mampu membunuh dan menghentikan aktivitas fisiologis dari bakteri, meskipun pemberian senyawa tersebut dihentikan (Wiyanto,

<http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax>

2010). Dengan demikian fraksi semipolar (etil asetat) dari ekstrak aktif *S. carteri* bersifat bakteriostatik dan juga bersifat bakterisid dikarenakan dapat menghambat dan membunuh bakteri *B. megaterium*.

KESIMPULAN

Pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak spons *Stylissa carteri* yang diuji pada bakteri *Bacillus megaterium* menunjukkan rata-rata diameter zona hambat (21,00) yang dikategorikan sangat kuat dibandingkan dengan yang diuji pada bakteri *Escherichia coli* yang rata-rata diameternya 18,00 mm. Pada pengujian partisi, fraksi semipolar dengan rata-rata diameter zona hambatnya (11,67 mm) dikategorikan kuat dibandingkan dengan fraksi polar dan non polar. Fraksi semipolar menunjukkan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yaitu pada konsentrasi 500 ppm sedangkan nilai *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) yaitu pada konsentrasi 1000 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Amir, I dan Budiyo. 1996. Mengenal Spons Laut (Demospongiae) Secara Umum. *Oseana*, Volume XXI, Nomor 2, 1996 : 15-31.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H.G., and Prinsep, M.R. 2012. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 29: 144–222, and previous reports in this series.
- Colin, L. P., and Charles A. 1995. Tropical Pacific Invertebrates : A Field Guide to the Marine Invertebrates Occuring on Tropical Pacific Coral Reefs, Seagrass Beds and Mangroves.
- Davis, W. W., T. R. Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology* 22: 659-665.
- Diyabalanage, T., Ratnayake, R., Bokesch, H.R., Ransom, T.T., Henrich, C.J., Beutler, J.A., McMahon, J.B., and Gustafson, K.R. 2012. Flabelliferins A and B, sesterpenoids from the South Pacific sponge *carteriospongia flabellifera*. *J. Nat. Prod.* 75: 1490–1494.
- Fattorusso, E., Gerwick, W.H., and Orazio Tagliatela-Scafati. 2012. Handbook of Marine Natural Products. Springer.
- Gudbjarnason, S. 1999. Bioactive Marine Natural Products. *Rit fiskideiddal.* 16:107–110.
- Jiang, C.-S., Muller, W.E.G., Schroder, H.C., and Guo, Y.-W. 2012. Disulfide- and Multisulfide-containing metabolites from marine organisms. *Chem. Rev.* 112: 2179– 2207.
- Kornprobst, J.M. 2010. Encyclopedia of marine natural products. Wiley-Blackwell. Oxford. 1594pp (3 vols).
- Newman, D.J. and Cragg, G.M. 2012. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* 75: 311–335, and previous reports in this series.
- Ortez, J. 2005. *Disk Diffusion Testing in Manual of Antimicrobial Susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology. 29
- Pettit, R.K., B.R. Fakoury, J.C. Knight, C.A. Weber, G.R. Pettit, G.D. Cage, S. Pon. 2004. Antibacterial Activity of The Marine Spone Sonstituent Cribrostatin 6. *Journal of Medical Microbiology*, 53: 61 – 65.
- Proksch, P., Ebel, R., Edrada, R.A., Schupp, P., Lin, W.H., Sudarsono, Wray, V. and Steube, K. 2003. Detection of pharmacologically active natural products using ecology, selected examples from Indopacific marine invertebrates and spon-derived fungi. *Pure Applied Chem.* 75: 343–352.
- Sumaryono, W. 2004. Prospek, tantangan dan strategi pengembangan bioteknologi kelautan di Indonesia. Makalah dalam Forum Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Indonesia. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta, 25 Maret 2004. 14 pp.
- De Voogd NJ. 2021. Komunikasi Pribadi Tentang Identifikasi Sampel Spons dari Teluk Manado.
- Watupongoh, C. C. A., Wewengkang, D. S., Rotinsulu, H. 2019. Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Organisme Laut Spons *Stylissa carteri* Yang Dikoleksi Dari Perairan Selat Lembeh Kota Bitung. Volume 8 Nomor 3.
- Widjhati, R.A., Supriono dan Subianto. 2004. Pengembangan senyawa bioaktif dari biota laut (review kegiatan penelitian biota laut di BPPT). Makalah dalam Forum Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Indonesia. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta, 25 Maret 2004. p. 89–95.
- Wiyanto, D.B. “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpuk Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*”. *Jurnal Kelautan.* 2010, 3, hal. 1-17.