

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF EXTRACTS AND FRACTIONS OF SPONGE
Liosina paradoxa FROM MANTEHAGE ISLAND WATERS**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI SPONS *Liosina paradoxa*
DARI PERAIRAN PULAU MANTEHAGE**

Endro Josua^{1)*}, Defny Wewengkang¹⁾, Elly Suoth¹⁾
¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado
*endrojosua96@gmail.com

ABSTRACT

*Sponges are one of the biota components that make up coral reefs that have bioactive potential, which has not been widely utilized. The secondary metabolite content of sponges is known to be able to ward off and inhibit the pathogenic bacteria that interfere with it. The purpose of this study was to determine whether the extracts and fractions of the *Liosina paradoxa* sponge collected from Mantehage Island waters able to inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The sample was extracted by maceration method with ethanol solvent and the fractionation method used was liquid - liquid fractionation. Antibacterial activity was tested using the agar diffusion method (Kirby and Bauer disc diffusion). The results obtained from the antibacterial activity test against the *Escherichia coli* bacteria, the methanol fraction got an average result of 9.94 mm and the average result of the chloroform fraction was 8.06 mm. In the *Staphylococcus aureus* bacteria, the methanol fraction got an average yield of 11.04 mm and the chloroform fraction an average yield of 7.19 mm, while the ethanol extract and n-hexane fraction did not have antibacterial activity on the two tested bacteria. Methanol fraction has moderate inhibitory power against *Escherichia coli* bacteria and strong inhibition against *Staphylococcus aureus* bacteria, while chloroform fraction has moderate inhibitory against both tested bacteria.*

Keywords: *Liosina paradoxa*, Antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Kandungan metabolit sekunder dari spons diketahui mampu menangkal dan menghambat bakteri patogen pengganggunya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak dan fraksi dari spons *Liosina paradoxa* yang diperoleh dari perairan Pulau Mantehage memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sampel diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol dan metode fraksinasi yang digunakan yaitu fraksinasi cair – cair. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Hasil yang didapat dari uji aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli*, fraksi metanol mendapatkan hasil rata-rata 9,94 mm dan pada fraksi kloroform hasil rata – rata 8,06 mm. Pada bakteri *Staphylococcus aureus*, fraksi metanol mendapatkan hasil rata - rata 11,04 mm dan pada fraksi kloroform hasil rata – rata 7,19 mm, sedangkan ekstrak etanol dan fraksi n – heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri pada kedua bakteri uji. Fraksi metanol memiliki daya hambat sedang terhadap bakteri *Escherichia coli* dan daya hambat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sementara fraksi kloroform memiliki daya hambat sedang terhadap kedua bakteri uji.

Kata kunci : *Liosina paradoxa*, Antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Terapi penyakit infeksi dengan menggunakan antibiotik sampai sekarang terus berkembang, penggunaannya pun meningkat. Penyakit infeksi di Indonesia masih termasuk dalam sepuluh penyakit terbanyak. Salah satu efek samping yang dikhawatirkan ialah resistensi antibiotik (Kemenkes, 2011).

Bakteri yang resisten dapat menyebabkan infeksi yang lebih berat dan hanya bisa diobati dengan antibiotik alternatif yang terbatas dan cenderung lebih mahal. Pada banyak penelitian, resistensi jelas terbukti meningkatkan morbiditas, mortalitas, biaya pengobatan dan menurunkan kualitas pelayanan kesehatan. Oleh karena itu diperlukan penelitian tentang senyawa baru sebagai antibakteri yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan (Widodo, 2010).

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 sekunder dari spons diketahui mampu 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.*, 2011; Suparno, 2005).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, merupakan bakteri enterik (*Enterobacteriaceae*) yaitu kuman flora normal yang ditemukan dalam usus besar manusia. Bakteri ini bersifat patogen apabila berada diluar usus, yaitu lokasi normal tempatnya berada dan tempat lain yang jarang ditinggali oleh bakteri ini. *Escherichia coli* sering menimbulkan infeksi pada saluran kemih, saluran empedu dan tempat-tempat lain di rongga perut. *Escherichia coli* juga merupakan penyebab diare dan infeksi saluran kemih (Jawetz *et al.*, 2005).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi

membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau (Brooks *et al.*, 2007).

Oeiyo *et al* (2019) dalam penelitiannya melaporkan bahwa fraksi metanol spons *Liosina paradoxa* menunjukkan aktivitas antimikroba paling besar terhadap *Escherichia coli* dengan nilai rata-rata 11,33 mm, dengan kategori kuat, fraksi kloroform 7,33 mm kategori sedang, fraksi n-hexan 7,16 mm kategori sedang, ekstrak etanol 7,83 mm kategori aktivitas antimikroba sedang.

METODOLOGI PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara. Penelitian ini dilakukan 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 pada bulan Oktober 2020 – Maret 2021.

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian yaitu eksperimen laboratorium yang dilakukan dengan cara menguji komponen yang diekstrak dan difraksinasi dari spons *Liosina paradoxa* sebagai antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram.

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, magnetic stirrer, pipet tetes, microtubes, hot plate, batang pengaduk, Laminar air flow, rak tabung reaksi, tabung reaksi, lemari pendingin, inkubator,

cakram (*paper disc*), mikropipet, mistar berskala, kertas label, sidol permanen.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu spons *Liosina paradoxa*, bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, etanol, akuades, metanol, n-heksan, kloroform, pepton, natrium klorida, ekstrak daging (*beef extract*), agar, kloramfenikol, *paper disc*, *tissue*, *aluminiumfoil*, kertas saring.

Pengambilan Sampel dan Preparasi Sampel

Sampel spons *Liosina paradoxa* diperoleh dari perairan Pulau Mantehage. Sebelum sampel diambil, difoto terlebih dahulu menggunakan kamera bawah laut. Sampel diambil dengan menggunakan alat bantu (*scuba diving*, tabung oksigen, ziplock dan pisau), kemudian dimasukkan dalam ziplock dan diberikan label, sampel dimasukkan ke dalam kotak dingin (*cool box*) yang berisi es batu dan tidak terkena matahari secara langsung. Sampel yang telah didapat langsung dibawa ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi. Sampel dibersihkan, lalu dipotong kecil-kecil, diberi label serta nomor sampel untuk selanjutnya dideterminasi.

Ekstraksi Sampel

Ekstrak spons *Liosina paradoxa* dibuat dengan cara maserasi. Sampel sebanyak 240 gram dibersihkan dan dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam botol 600 ml, kemudian direndam dengan pelarut etanol sampai sampel terendam semuanya dan dibiarkan selama 24 jam. Sampel yang direndam disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 kemudian diremaserasi dengan pelarut etanol sampai terendam semuanya dan dibiarkan selama 24 jam, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Debris 2 kemudian diremaserasi dengan pelarut etanol sampai terendam semuanya dan dibiarkan selama 24 jam, sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 3 dan debris 3. Filtrat 1,2, dan 3 dicampur menjadi satu kemudian disaring, lalu

dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dan selanjutnya ekstrak kasar spons *Liosina paradoxa* digunakan dalam fraksinasi dan pengujian antibakteri.

Fraksinasi Sampel

Ekstrak kasar spons *Liosina paradoxa* 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. 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 antibakteri 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 akuades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian dibuat homogen menggunakan *magnetic stirrer* lalu diautoklaf pada suhu 121

°C selama 15 menit. Dipipet 1 mL media cair B1 kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil. Media cair B1 siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Ortez, 2005).

Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif dalam pengujian antibakteri ini menggunakan kloramfenikol *paper disc*. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan pelarut metanol, dengan cara dibuat larutan stok metanol dengan mengambil sebanyak 200 µL metanol kemudian ditotolkan pada kertas cakram (Lalamentik, 2017).

Kultur Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri dipipet sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media cair yang sudah disiapkan sebelumnya. Tiap tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37 °C (Ortez, 2005).

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan cara dilarutkan 2 mg ekstrak kasar spons *Liosina paradoxa* ke dalam 400 µL metanol sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250 µg/50 µL. Perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol (Ortez, 2005).

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. Media agar B1 siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Ortez, 2005).

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 µL tiap cakram. Sampel yang telah ditentukan konsentrasinya yaitu 250 µg/50 µL ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Bakteri yang telah dikultur dalam hal ini *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dipipet dan diinokulasi pada media Agar B1, lalu media agar yang telah diinokulasi dituangkan ke dalam cawan petri dan ditunggu sampai media mengeras. Kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji spons *Liosina paradoxa* diletakkan menggunakan pinset ke dalam cawan petri dan kemudian diinkubasi selama 24 jam (Ortez, 2005).

Pengamatan dan Pengukuran Zona Bening

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 bening. Diameter zona bening diukur menggunakan mistar berskala. Diameter ≤ 5 mm memiliki kekuatan daya hambat lemah, 6-10 mm daya hambat sedang, 11-20 mm daya hambat kuat dan ≥ 21 mm daya hambat sangat kuat (Susanto, dkk, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses perendaman sampel pada metode maserasi dapat membuat dinding sel pecah karena adanya perbedaan konsentrasi di dalam dan diluar sel. Konsentrasi di luar sel lebih tinggi dari konsentrasi di dalam sel, sehingga dinding sel menjadi pecah karena tidak dapat menahan tekanan dari perbedaan konsentrasi (Harborne, 1996).

Sampel dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol karena etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari yang efektif. Kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, absorbsinya baik, dan dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan. Untuk konsentrasi yang digunakan yaitu etanol 95%, ini karena semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan maka semakin baik pula proses penarikan senyawa dari dalam sel (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015).

Hasil ekstrak yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kasar yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Ekstrak kasar yang diperoleh difraksinasi dengan tiga pelarut berbeda yang mewakili pelarut polar, semi polar, dan non polar. Dalam hal ini pelarut yang digunakan ialah metanol, kloroform dan n-heksan. Dari proses ini, dapat diketahui sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan, dimana senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sebaliknya senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Irwan, 2017).

Pada proses fraksinasi, ekstrak kasar etanol diambil sebanyak 2,50 gram. Hasil rendemen ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Fraksi Spons *Liosina paradoxa*

No	Sampel	Berat (g)	Randemen (%)	Warna
1	Ekstrak Etanol	5,24	2,18	Coklat
2	Fraksi n-Heksan	0,09	3,60	Kuning
3	Fraksi Kloroform	0,06	2,40	Putih Keabuan
4	Fraksi Metanol	1,47	58,80	Putih

Pelarut yang berbeda akan melarutkan senyawa-senyawa yang berbeda tergantung berdasarkan tingkat kepolaran. Oleh karena itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan tergantung dari jenis pelarut yang dipakai (Mujihradana *et al*, 2018). Berangkat dari teori tersebut, dapat dilihat pada tabel 1 bahwa hasil yang didapatkan berbeda-beda, fraksi metanol memiliki hasil rendemen paling tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa spons *Liosina paradoxa* banyak mengandung senyawa yang bersifat polar sehingga pelarut metanol banyak menarik senyawa tersebut dari dalam sampel.

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI

Pada pengujian aktivitas antibakteri

digunakan metode difusi agar (*Disk diffusion Kirby and Bauer* yang telah dimodifikasi), dan bakteri yang digunakan ialah *Escherichia coli* yang mewakili bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri Gram positif. Hal ini dilakukan agar dapat mengetahui apakah spons *Liosina paradoxa* memiliki sifat antibakteri dengan spektrum luas atau tidak. Suatu antibakteri dikatakan berspektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Dwijoseputro, 1990).

Zona bening yang terbentuk di sekitar cakram (*paper disc*) yang berukuran 6 mm, menunjukkan adanya aktivitas penghambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan oleh spons *Liosina paradoxa*. 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 (Mujihradana *et al*, 2018).

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona bening ekstrak dan fraksi spons *Liosina paradoxa* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

	EE	FK	FH	FM	c+	c-
<i>Ec</i>	-	7,66	-	11,03		
	-	7,97	-	8,95	28,63	-
	-	8,56	-	9,86		
Σ	-	24,19	-	29,84		
Rata-rata	-	8,06	-	9,94		
<i>Sa</i>	-	7,20	-	12,83		
	-	7,13	-	11,01	30,38	-
	-	7,26	-	10,38		
Σ	-	21,59	-	34,22		
Rata-rata	-	7,19	-	11,04		

Keterangan:

EE : Ekstrak Etanol FM : Fraksi Metanol
FK : Fraksi Kloroform C+: Control Positif
FH : Fraksi Heksan C- : Control Negatif

Hasil pengukuran rata – rata diameter daya antibakteri dari ekstrak etanol, fraksi klorofom, fraksi n – heksan, dan fraksi metanol ditunjukkan pada tabel 2. Hasil pengukuran diameter yang diperoleh digolongkan berdasarkan kriteria kekuatan daya antibakteri menurut Davis dan Stout (1971) yang ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Kriteria kekuatan daya antibakteri

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

Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol *paper disc* karena kloramfenikol merupakan antibiotik bersifat bakteristatik dan mempunyai spektrum luas. Kloramfenikol efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan gram positif dan gram negatif (Soekardjo dan Siswandono, 2000). 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 dalam pengujian ialah Metanol, hal ini dikarenakan pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak dan semua fraksi sebagai sampel uji adalah metanol. Kontrol negatif ini bertujuan untuk membuktikan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan berasal dari sampel uji spons *Liosina paradoxa* dan bukan dari pelarutnya. Sesuai dengan hasil yang diperoleh, kontrol negatif yang digunakan dalam hal ini ialah metanol tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri *Escherichia coli* maupun bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil yang diperoleh pada ekstrak etanol tidak menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram, pada bakteri *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus*. Ini berarti senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol spons *Liosina paradoxa* tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Hasil yang diperoleh pada fraksi metanol menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram pada kedua bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Zona bening yang terbentuk merupakan yang terbesar dibanding dengan ekstrak dan fraksi lainnya yaitu dengan rata – rata diameter 9,94 mm dengan kategori sedang pada *Escherichia coli* dan 11,04 mm dengan kategori kuat pada *Staphylococcus aureus*. Ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat pada fraksi metanol memiliki aktivitas antibakteri dengan spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif.

Hasil yang diperoleh pada fraksi n – heksan tidak menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram, baik pada bakteri *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus*. Ini berarti bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi n – heksan spons *Liosina paradoxa* tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Hasil yang diperoleh pada fraksi kloroform menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram pada kedua bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Zona bening yang terbentuk memiliki rata – rata diameter 9,06 mm dengan kategori sedang pada *Escherichia coli* dan 7,19 mm dengan kategori sedang pada *Staphylococcus aureus*. Ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat pada fraksi kloroform memiliki aktivitas antibakteri dengan spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif.

Hasil yang didapat dari pengujian ini ialah spons *Liosina paradoxa* memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi metanol dan fraksi kloroform-nya dengan kategori kuat dan sedang. Pada ekstrak etanol tidak memiliki aktivitas antibakteri, hal ini dikarenakan pada ekstrak tersebut masih mengandung banyak senyawa yang tidak spesifik, dimana masing – masing senyawa tersebut mempunyai fungsi yang berbeda- beda. Setelah dilakukan pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya melalui proses fraksinasi barulah senyawa – senyawa tersebut menjadi lebih spesifik dari sebelumnya, dan didapatilah senyawa yang bersifat polar dan semi polar pada spons *Liosina paradoxa* yang memiliki aktivitas antibakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sampel spons *Liosina paradoxa* yang diambil dari perairan pulau Mantehage memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi metanol dengan kategori daya hambat sedang pada bakteri *Escherichia coli* dan kuat pada *Staphylococcus aureus* dan fraksi kloroform dengan kategori daya hambat sedang pada kedua bakteri uji.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap spons *Liosina paradoxa* khususnya untuk ekstrak dan fraksi yang tidak memiliki aktivitas antibakteri kemungkinan memiliki fungsi yang lain seperti antioksidan dan sebagainya.

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.
- Brooks, G.F., Butel, J.F., Morse, S.A., editors. 2007. *Jawetz, Melnick & Adelberg Mikrobiologi Kedokteran (25th ed)*. Jakarta: EGC ; p. 206-11.
- Davis, W.W., T.R. Stout.1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. **22**:659-665.
- Denning, D. 2006 . *Branches on the Tree of Life: Sponges*. From <http://ebiomedica.com/prod/BOsporges.html>. [diakses pada 13 Oktober 2020]
- Dwijoseputro. (1990). *Dasar-dasar mikrobiologi (Ed. ke-11)*. Jakarta: Djambtan.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi Kedua*. Diterjemahkan oleh Kosashi dan Iwang Soedira. Bandung : ITB Press.
- Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (terjemahan) Edisi ke 25*. Jakarta : EGC.
- Kemenkes RI, 2011, *Modul Penggunaan Obat Rasional*, Bina Pelayanan Kefarmasian, Jakarta.
- Lalamentik, G. 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak Klyxum sp. yang Diperoleh dari Teluk Manado*. [Skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mujihradana, V.N., D. S. Wewengkang.,E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak *Ascidian Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmacoon*. **7(3)**: 338-347.
- Oeiyoano, W., Simbala, H., Rotinsulu, H. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Spons *Liosina paradoxa* Dari Perairan Desa Tumbak Minahasa Tenggara Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*, *Jurnal Pharmacoon*. Vol. **8(3)**. Hal. 629.
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology, America.
- Sa'adah, H., Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol. **1(2)**. Hal. 150.
- Soekardjo, B., Siswandono. 2000. *Kimia Medisinal*. Surabaya : UNAIR Press.
- Suparno. 2005. *Kajian Bioaktif Spons Laut (Porifera : Demospongiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia Dalam Bidang Farmasi*. Bogor : IPB.
- Susanto, D., Sudrajat dan R. Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie*. Vol. **11 (2)**: 181-190.
- Widodo, D. 2010. *Kebijakan Penggunaan Antibiotika Bertujuan Meningkatkan Kualitas Pelayanan Pasien dan Mencegah Peningkatan Resistensi Kuman*. Jakarta : CDK (Cermin Dunia Kedokteran).