

**ANTIBACTERIAL POTENTIAL AND EKTRACTS AND FROM MARINE SPONGE ORGANISM *Stylissa carteri* AGAINTS THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* bacteria.**

**POTENSI ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI DARI ORGANISME LAUT *Stylissa carteri* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*.**

**Viska Fadila Tompunu<sup>1)\*</sup>, Defny S. Wewengkang<sup>1)</sup>, Erladys M. Rumondor<sup>1)</sup>**

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

\*viska.tompunu@gmail.com

**ABSTRACT**

*Sponges are multicellular metazoan animals belonging to the phylum Porifera. Sponges have antibacterial, anticancer and anti-parasitic activity. The purpose of this study was to determine whether Stylissa carteri sponge obtained from the waters of Manado Bay have the potential of antibacterial activity against Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria. The extraction method used is maceration using 95% ethanol as solvent and the fractionation method used is liquid-liquid fractionation. Testing of antibacterial activity using disk diffusion agar method (kirby-bauer). The results obtained from the antibacterial activity test against Staphylococcus aureus bacteria, the methanol fraction obtained an average yield of 10.21 mm, and the n-hexane fraction obtained an average yield of 6.93 mm. Against Escherichia coli bacteria, the methanol fraction obtained an average yield of 7.96 mm and the n-hexane fraction averaged 8.62 mm, while the ethanol extract and chloroform fraction did not shown antibacterial activity against the two test bacteria. The methanol fraction had strong inhibition against Staphylococcus aureus and moderate inhibition against Escherichia coli, while the n-hexane fraction had moderate inhibition against the two test bacteria.*

**Keywords:** *Stylissa carteri*, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

**ABSTRAK**

Spons merupakan hewan metazoa multiseluler yang tergolong dalam filum porifera. Spons memiliki aktivitas antibakteri, anti kanker dan anti parasit. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah spons *Stylissa carteri* yang diperoleh dari perairan Teluk Manado memiliki potensi aktivisasi antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95% dan metode fraksinasi yang digunakan yaitu fraksinasi cair-cair. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (*disc diffusion kirby*). Hasil yang didapat dari pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, fraksi metanol mendapatkan hasil rata-rata 10,21 mm, dan pada fraksi n-hexan hasil rata-rata 6,93 mm. Pada bakteri *Escherichia coli*, fraksi metanol mendapatkan hasil rata-rata 7,96 mm dan pada fraksi n-hexan hasil rata-rata 8,62 mm, sedangkan ekstrak etanol dan fraksi kloroform tidak memiliki aktivitas antibakteri pada kedua bakteri uji. Fraksi metanol memiliki daya hambat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan daya hambat sedang pada bakteri *Escherichia coli*, sementara fraksi n hexan memiliki daya hambat sedang terhadap kedua bakteri uji.

**Kata Kunci :** *Stylissa carteri*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## PENDAHULUAN

Organisme laut merupakan sumber yang kaya akan senyawa aktif biologis (Zhang *et al.*, 2009). Senyawa bioaktif yang berasal dari invertebrata laut memiliki kemiripan dengan metabolit yang dihasilkan oleh mikroorganisme simbiotiknya (Radjasa *et al.*, 2007). Kemungkinan besar produsen asli dari senyawa bioaktif pada spon adalah mikroorganisme simbion dari spon tersebut (Thomas *et al.*, 2010). Spon laut diketahui menjadi tempat hidup beberapa jenis bakteri yang jumlahnya mencapai 40 % dari biomassa spon. Simbiosis antara bakteri dengan spon laut berpotensi menghasilkan antibakteri (Kanagasabhapathy *et al.*, 2005).

Spon memiliki aktivitas antimikroba, antiparasit dan antikanker. Spon merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentasenya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Suparno, 2005).

Salah satu contoh spon yang banyak ditemukan di perairan Indonesia khususnya di Teluk Manado adalah *Stylissa carteri*. Spon *Stylissa carteri* dapat menghasilkan metabolit sekunder dari proses metabolisme dalam sel yang ada pada tubuhnya. Adapun metabolit sekunder yang dihasilkan memiliki struktur yang khas dibandingkan spesies-spesies organisme laut lainnya, karena bergantung pada lingkungan dan interaksi (simbiosis) dengan organisme lainnya. Dari berbagai penelitian spesies ini memiliki senyawa metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, steroid dan terpenoid (Gozcelioglu dan Konuklugil, 2012).

Antibakteri diperlukan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri, contoh beberapa bakteri yang dapat menyebabkan infeksi diantaranya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah flora normal yang dapat ditemukan pada manusia, tetapi dapat menyebabkan penyakit infeksi. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan pembentukan nanah pada luka yang sering dijumpai pada kulit, selaput lender, bisul-bisul, dan luka. *Escherichia coli* adalah bakteri yang secara normal hidup di saluran pencernaan manusia dan hewan. Meskipun bakteri *Escherichia coli* secara normal hidup di saluran pencernaan, tapi dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, diare terutama pada bayi dan anak, pneumonia,

meningitis pada bayi, dan infeksi luka di dalam abdomen (Irianto, 2006).

Pada penelitian sebelumnya telah ditemukan hasil bahwa spon *Stylissa carteri* yang diambil di Pulau Lembeh Bunaken hanya memiliki aktivitas antimikroba pada senyawa polar saja, pada ekstrak etanol dan fraksi metanol. Aktivitas yang dihasilkan sedang dan kuat untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sedangkan untuk senyawa non polar dan semi polar fraksi n-hexane dan fraksi kloroform tidak ada kepekaan aktivitas antimikroba (Cavieta, 2019).

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bentuk penelitian

Penelitian ini berbentuk eksperimen laboratorium yang akan dilakukan dengan cara menguji komponen yang diekstrak dari spon *Stylissa carteri* yang diperoleh dari perairan Teluk Manado sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan April sampai Juli 2021 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

### Alat dan Bahan

#### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu scuba diving, sarung tangan, gunting, botol 600 ml, talenan, cool box, pisau, snorkel, fins, zipper lock bag, Erlenmeyer (Pyrex), corong, oven, timbangan analitik, corong pisah, gelas ukur, gelaskimia (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.

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spon *Stylissa carteri* bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, etanol 95%, akuades, metanol, n-heksan, kloroform, pepton, natrium klorida, media agar

B1 (*meat extract*), nutrient agar, kloramfenikol, *paper disc*, *aluminium foil*, kertas saring.

### Pengambilan dan preparasi sampel

Sampel spons *Stylissa carteri* diambil dari perairan Teluk Manado menggunakan scuba (masker, snorkel, fins dan tabung oksigen). Sampel dibersihkan dari kotoran yang menempel di sekitarnya, difoto lalu dimasukkan ke dalam *zipper lock bag* dan diletakkan di dalam *cool box*, kemudian langsung dibawa ke Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Sampel difoto dan diberi label serta nomor sampel, untuk selanjutnya dideterminasi.

### Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Spons *Stylissa carteri* diekstraksi dengan menggunakan cara maserasi sebanyak 300 g kemudian sampel dibersihkan dan dipotong kecil-kecil dengan ukuran 1 cm<sup>2</sup> lalu dimasukkan ke dalam botol dan direndam dengan larutan etanol 95% sampai sampel terendam secara keseluruhan dan dibiarkan selama 24 jam. Sampel yang direndam disaring dengan menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 direndam dengan larutan etanol 95% sampai sampel terendam secara keseluruhan kemudian dibiarkan selama 24 jam. Sampel tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Debris 2 kemudian direndam dalam larutan etanol 95% sampai sampel terendam secara keseluruhan 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 *oven* hingga kering sehingga didapat ekstrak kasar Spons *Stylissa carteri*., kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik, diperoleh ekstrak etanol sebanyak 13,84 g. Selanjutnya ekstrak etanol Spons *Stylissa carteri* digunakan dalam fraksinasi dan pengujian antimikroba.

### Fraksinasi Sampel

Ekstrak kasar Spons *Stylissa carteri* yang diperoleh Sebanyak 7 g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian dilarutkan dengan metanol 80% sebanyak 200mL. Setelah sampel larut, sampel dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 200 mL. Sampel kemudian dikocok berulang kali dalam

corong pisah hingga homogen. Sample dibiarkan hingga membentuk lapisan metanol (MeOH) dan lapisan n-heksan. Masing-masing lapisan metanol dan lapisan n-heksan ditampung di dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan selanjutnya diuapkan menggunakan oven hingga kering, lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksi n-heksan sebanyak 1,84 g. Selanjutnya lapisan metanol ditambahkan dengan akuades 200 mL, kemudian dipartisi dengan pelarut kloroform menggunakan perbandingan 1:1 v/v setelah itu dikocok dalam corong pisah hingga homogen. Lapisan metanol dibiarkan hingga membentuk dua lapisan yaitu lapisan metanol dan lapisan kloroform. Masing-masing lapisan metanol dan lapisan kloroform ditampung ke dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform diuapkan menggunakan oven hingga kering lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksi kloroform sebanyak 0,4 g. Lapisan metanol yang ditampung pada wadah lain diuapkan menggunakan oven hingga kering lalu ditimbang dengan timbangan analitik dan diperoleh fraksi metanol sebanyak 4 g. Ketiga fraksi yang diperoleh akan digunakan dalam pengujian antibakteri. Rendemen-rendemen ekstrak dan fraksi dihitung dengan persamaan berat hasil ekstrak/fraksi dibagikan dengan berat awal ekstrak/fraksi kemudian dikalikan dengan 100%.

$$Rendemen = \frac{\text{Berat hasil ekstrak}}{\text{Berat ekstrak awal}} \times 100\%$$

### Sterilisasi

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

### Pembuatan Media Cair B1

Pepton 0,5 g, *beef extract* 0,3 g, natrium klorida 0,3 g dan akuades sebanyak 100 ml diaduk sampai homogen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan setelah itu didinginkan. Setelah dingin, media cair B1 di tutup dengan *aluminium foil* media cair B1 siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Dwijendra *et al*, 2014).

### **Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif**

Kontrol positif dalam pengujian aktivitas 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 50  $\mu\text{L}$  metanol kemudian di totolkan pada *paper disc* (Lalamentik, 2017).

### **Kultur Bakteri Uji**

Bakteri yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Masing-masing bakteri dipipet sebanyak 100  $\mu\text{L}$  kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang sudah berisi media cair B1 sebanyak 1ml dan kemudian ditutup menggunakan *Aluminium foil* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24jam (Ortes, 2005).

### **Pembuatan Larutan Uji**

Larutan uji dibuat dengan cara 2 mg ekstrak kasar Spons *Stylissa carteri*. dilarutkan dalam 400  $\mu\text{L}$  metanol sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250  $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$  kemudian dikocok hingga homogen menggunakan vortex. Perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol (Ortez, 2005).

### **Pembuatan Media Agar B1**

Pepton 0,5 g, *beef extract* 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, agar 1,5 g dan akuades sebanyak 100 mL diaduk sampai homogen kemudian disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media agar siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (Dwijendra *et al*, 2014).

### **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  $\mu\text{L}$  tiap cakram. Sebanyak 300  $\mu\text{L}$  mikroba yang telah dikultur, dipipet dan diinokulasi pada 30 ml media agar lalu diaduk hingga homogen dan kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan tunggu sampai media agar mengeras. Kemudian, larutan uji yang telah sederhana juga paling menguntungkan pada isolasi senyawa bahan alam laut, karena pada saat perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel pada sampel, karena

disiapkan ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Setelah agar mengeras, kertas cakram yang telah ditotolkan sampel Spons *Stylissa carteri*., kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan ke dalam cawan petri dengan menggunakan pinset. Selanjutnya, cawan petri diberi label dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1 x 24 Jam (Ortez, 2005).

### **Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat**

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitar cakram menunjukkan kepekaan mikroba 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 diukue diameter total zona bening cakram. Diameter  $\leq 5$  mm memiliki kekuatan daya hambat lemah, 5-10 mm daya hambat sedang, 10-20 mm daya hambat kuat 20 mm atau lebih daya hambat sangat kuat (Davis dan stout, 1971).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Determinasi Sampel**

Determinasi spons *Stylissa carteri* dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi Manado. Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan sampel yang diambil dan dilakukan pengujian aktivitas antimikroba adalah sampel yang sesuai yaitu spons *Stylissa carteri*.

### **Ekstraksi Spons *Stylissa carteri***

Sebelum dilakukan ekstraksi, sampel spons *Stylissa carteri* dipotong kecil-kecil untuk memperluas ukuran sampel sehingga proses ekstraksi dapat berjalan optimal karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara pelarut dan sampel semakin baik, semakin banyak senyawa aktif yang akan tertarik ke dalam pelarut (Kristianti *et al*, 2008). Sampel kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Penggunaan metode maserasi digunakan selain mudah dan

terdapat perbedaan tekanan didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstrak senyawa yang dihasilkan akan sempurna karena mudah diatur

melalui proses perendaman. Maserasi agar lebih efisien dilakukan berulang kali dari pada hanya dilakukan sekali (Mujiprahdana, 2018) Sampel spons *Stylissa carteri* dilakukan dengan etanol 95% sampai semua sampel terendam, karena pelarut etanol 95% memiliki sifat selektif, tidak beracun dan bersifat universal yang cocok untuk mengekstrak semua golongan senyawa metabolit sekunder (Kristianti *et al.*, 2018).

Proses ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam dan setiap 1x24 jam ekstraks disaring kemudian diremaserasi menggunakan pelarut yang baru. Remaserasi dilakukan agar senyawa

aktif dalam sampel ditarik secara optimal (Huliselan *et al.*, 2015).

Hasil ekstrak spons *Stylissa carteri* selanjutnya diuapkan menggunakan oven dengan suhu 40°C, penguapan ekstrak ini dilakukan agar air dan pelarut yang tersisa dalam ekstrak akan menguap. Menggunakan suhu 40°C untuk tetap menjaga senyawa bioaktif dalam fitrat karena biasanya senyawa-senyawa bioaktif tidak tahan terhadap suhu tinggi (Kowal *et al.*, 2018). Ekstrak kasar yang diperoleh setelah diuapkan menggunakan oven dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rendemen ekstrak spons *Stylissa carteri*

NO	Sampel	Massa ekstrak (g)	Rendemen (%)	Warna Sampel
1.	Ekstrak Etanol	13,84	4,61	Orange kecoklatan

### Fraksi Spons *Stylissa carteri*

Setelah proses maserasi selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dengan menggunakan metode fraksinasi cair-cair yang merupakan metode pemisahan dengan menggunakan dua pelarut dalam satu corong pisah sehingga pelarut tidak saling bercampur karena memiliki sifat kepolaran yang berbeda. Pelarut yang digunakan ialah metanol, kloroform, dan n-hexan. 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 (Engka, 2016).

Pada saat fraksinasi dengan pelarut-pelarut yang berbeda kepolaran, akan terbentuk 2 lapisan, pelarut yang memiliki masa jenis yang lebih besar akan berada dibawah dan pelarut yang memiliki masa jenis kecil akan berada di lapisan atas (Mujiprahdana *et al.*, 2018). Kemudian fraksi yang diperoleh akan diuapkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C dan digunakan untuk uji antibakteri. Massa fraksi beserta rendemen yang dihasilkan ditunjukkan pada tabel 2.

**Table 2.** Rendemen fraksi spons *Stylissa carteri*

NO	Sampel	Massa Ekstrak (g)	Rendemen (g)	Warna Sampel
1	Fraksi n-hexan	1,84 g	26,28 %	Orange pekat
2	Fraksi Kloroform	0,4 g	5,71 %	Orange jernih
3	Fraksi Metanol	4 g	57,14 %	Kuning Jernih

Perbedaan nilai rendemen ini disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan yaitu polar dan non polar. Dalam hal ini pelarut yang digunakan n-hexan, methanol dan kloroform.

Pelarut yang berbeda akan melarutkan senyawa-senyawa yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya. Oleh karena itu jumlah ekstrak

yang dihasilkan tergantung jenis pelarutnya (Mujiprahdana *et al*, 2018).

Dapat dilihat pada Tabel 2 bahwa hasil yang didapat berbeda-beda, fraksi methanol memiliki hasil rendemen paling tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa spons *Stylissa carteri* banyak mengandung senyawa yang bersifat polar sehingga pelarut methanol banyak menarik senyawa tersebut dari sampel. Sedangkan pada fraksi n-hexan memiliki hasil rendemen yang lebih sedikit dari methanol hal ini menunjukkan bahwa spons *Stylissa carteri* bisa larut dalam senyawa non polar meski senyawa yang ditarik dari non polar tidak sebanyak dari pelarut polar.

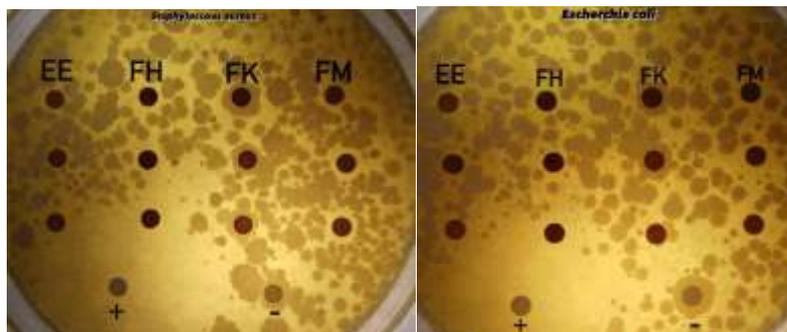
### Uji Aktivitas Antibakteri

Selanjutnya dilakukan pengujian Aktivitas Antibakteri spons *Stylissa carteri* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari ekstrak etanol, fraksi methanol, fraksi n-hexan, dan fraksi kloroform

menggunakan metode difusi agar. Metode difusi agar yaitu metode yang dilakukan dengan pengukuran dan pengamatan diameter zona bening yang terbentuk disekitar cakram yang berisi zat antimikroba yang diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi mikroba (Lalamentik, 2017).

Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri Gram positif, *Escherichia coli* yang mewakili bakteri Gram negatif. Hal ini dilakukan untuk mengetahui apakah spons *Stylissa carteri* memiliki sifat antibakteri dengan spektrum luas atau tidak. Antibakteri dikatakan berspektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Sedangkan berspektrum sempit yaitu hanya menghambat pertumbuhan salah satu dari Bakteri Gram positif atau Gram negatif (WHO, 2014).

Berikut adalah gambar yang diperoleh setelah dilakukan pengujian terhadap bakteri uji



Gambar A. *Staphylococcus aureus*

Gambar B. *Escherichia coli*

**Gambar 1.** Hasil Uji Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Spons *Stylissa carteri*

**Tabel 3.** Hasil rata-rata Aktivitas Antimikroba, Keterangan; (Ec)*Escherichia coli*, (Sa)*Staphylococcus aureus*, (EE) Ekstrak etnol, (FH) Fraksi n-heksan, (FK) Fraksi kloroform, (FM) Fraksi metanol, (+) kontrol positif, (-) kontrol negatif, ( $\Sigma$ ) jumlah zona bening, ( $\bar{X}$ ) jumlah rata-rata zona bening.

Bakteri	Rata- Rata Diameter (mm)					
	EE	FH	FK	FM	(+)	(-)
<b>Ec I</b>	-	7,15	-	8,07	32,83	-
<b>II</b>	-	6,34	-	7,78		-
<b>III</b>	-	7,32	-	8,03		-
<b><math>\Sigma</math></b>	-	20,81	-	23,88		-
<b><math>\bar{X}</math></b>	-	8,62	-	7,96		-
<b>Sa I</b>	-	7,51	-	10,12	39,72	-
<b>II</b>	-	6,34	-	10,84		-
<b>III</b>	-	7,32	-	9,68		-
<b><math>\Sigma</math></b>	-	20,81	-	30,64		-
<b><math>\bar{X}</math></b>	-	6,93	-	10,21		-

Hasil yang diperoleh pada pengujian ini, yaitu adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram (*paper disc*) yang berukuran 6mm, menunjukkan adanya aktivitas penghambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan oleh spons *Stylissa carteri*. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C dengan tiga kali pengulangan untuk mengakuratkan hasil yang diperoleh (Mujipradana *et al*, 2018).

Hasil yang diperoleh pada ekstrak etanol dan fraksi kloroform tidak menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram, baik pada bakteri *Staphylococcus aureus* maupun bakteri *Escherichia coli*. Ini berarti bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dan fraksi kloroform spons *Stylissa carteri* tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Pada penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri fraksi non polar, semipolar, dan polar ekstrak etanol yang dilakukan oleh Akhil *et al*, (2007) menyatakan bahwa hal ini memungkinkan kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri pada bahan uji ini tidak ada atau masih terkandung banyak pada fraksi polar sehingga tidak mampu berpotensi sebagai antibakteri dan beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi stabilitas senyawa aktif yaitu suhu, radiasi cahaya, udara (terutama oksigen, karbondioksida, dan uap air) dan kelembapan. Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi stabilitas yaitu : pH 7,0, sifat air dan kondisi biotik,

dan keberadaan bahan kimia lain yang merupakan kontaminan stabilitas senyawa aktif. Selain itu kondisi lingkungan yang buruk dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder atau dipengaruhi pula oleh organisme asosiasi, seperti ancaman predator, makro dan mikroorganisme patogen, kompetisi ruang dan makanan (Nurfadilah, 2013).

Hasil yang diperoleh pada fraksi metanol dan fraksi n-hexane menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram pada kedua bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*. Ini berarti bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam fraksi n-hexan dan fraksi kloroform memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas yang paling baik terjadi pada fraksi methanol dengan daya hambat sebesar 10,21mm menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat. Sedangkan untuk bakteri *Escherichia coli* aktivitas yang paling baik terjadi pada fraksi methanol dengan daya hambat sebesar 7,96mm dengan kategori sedang. Hal ini berarti spons *Stylissa carteri* yang diambil di Teluk Manado terdapat aktivitas antibakteri pada senyawa yang bersifat polar dan non polar, meskipun senyawa non polar tidak sebanyak dengan senyawa polar.

Dari hasil yang ditunjukkan diatas, menunjukkan bahwa dari berbagai penelitian juga menyatakan bahwa spesies *Stylissa carteri* ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti golongan alkaloid, steroid dan terpenoid,

yaitu senyawa yang bersifat semi polar dan non polar (Gozcelioglu dan Konuklugil, 2012).

Dari hasil yang ditunjukkan diatas, daya hambat bakteri disebabkan karena struktur dinding sel bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk kedalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif *Escherichia coli* lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lippolisakarida. Sehingga daya hambat bakteri yang terjadi lebih kuat pada bakteri golongan gram positif (Kumayas dkk, 2015).

Dalam pengujian ini digunakan kontrol positif dan negatif sebagai pembanding. Kontrol positif yang digunakan dalam pengujian ini yaitu kloramfenikol, digunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif dikarenakan kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan memiliki spektrum yang luas. Penggunaan kontrol positif berfungsi sebagai kontrol dari zat uji, dengan membandingkan diameter daerah hambat yang terbentuk (Dwijendra *et al*, 2014).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa spons *Stylissa carteri* yang diperoleh dari perairan Teluk Manado memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi metanol dengan nilai rata-rata 10,21 kategori daya hambat kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan daya hambat sedang pada bakteri *Escherichia coli* dengan nilai rata-rata 7,96. Dan fraksi n-hexan memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori sedang pada kedua bakteri uji dengan nilai rata-rata 8,62 untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan 6,93 untuk bakteri *Escherichia coli* Sedangkan untuk ekstrak etanol dan fraksi kloroform tidak adanya kepekaan aktivitas antibakteri untuk itu tidak terdapat zona bening pada saat pengujian.

## SARAN

Dari hasil yang didapat maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap spons *Stylissa carteri* khususnya untuk ekstrak dan fraksi yang tidak memiliki aktivitas antibakteri kemungkinan memiliki aktivitas yang lain seperti antioksidan, antivirus dan lainnya.

Hasil yang diperoleh menunjukkan kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri yang jauh lebih besar terhadap bakteri uji dibandingkan ekstrak dan semua fraksi spons *Stylissa carteri*. Diameter zona bening yang dihasilkan kloramfenikol pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 39,72mm dan pada bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 32,83mm.

Kontrol negatif yang digunakan dalam pengujian ini yaitu methanol, hal ini dikarenakan pelarut yang digunakan dalam melarutkan ekstrak dan semua fraksi sebagai sampel uji ialah metanol. Kontrol negatif digunakan untuk mengetahui bahwa aktivitas yang ditunjukkan oleh ekstrak atau fraksi ialah zat yang terkandung dalam sampel bukan berasal dari pelarut yang digunakan. Sesuai dengan hasil yang diperoleh metanol sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* maupun bakteri *Escherichia coli*. Ini membuktikan bahwa senyawa-senyawa yang terdapat pada spons *Stylissa carteri* lah yang terdapat aktivitas antibakteri dan bukan dari pelarutnya

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhil JS, Syamjith, Deepa, Alwar MC, 2007. Acute toxicity studies and determination of median lethal dose. *Science* **93**(7):917-920.
- Cavieta,W.2019. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Organisme Laut Spons *Stylissa carteri* yang dikoleksi dari Perairan Selat Lembeh Kota Bitung [skripsi] FMIPA UNSRAT,Manado.
- Dwijendra, I. M., D. S. Wewenggang., dan F. Wehantou. 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 (*Drynariaquercifolia* L.) [skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.

- Gozcelioğlu, B., Dan Konuklugil, B., 2012, Qualitative Detection of Some Secondary Metabolites from Three Turkish Marine Sponges, *Fabad J. Pharm. Sci.*, **37**: 73-78.
- Huliselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J., dan Wewengkang, D. S. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil, Asetat, dan n-heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **4(3)**:155-163.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Menguk Denia Mikroorganisme Jilid I*. Bandung : Yrama Widya.
- Kanagasabaphati, A., Kumari, S. 2005. Guidelines for Good Clinical Laboratory Practice Standards. National Institute of Health. Bethesda.
- Kristanti, A. N., N.S. Aminah., M. Tanjung., B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Unair Press, Surabaya.
- Lalamentik, G. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Klyxum* sp. yang Diperoleh dari Teluk Manado. [Skripsi]. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Mujipradana, V.N., D. S. Wewengkang., dan E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak Ascidian *Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmacoon*. **7(3)**: 338-347.
- Nurfadilah, 2013, Uji Bioaktivitas antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde, Kota Makasar, [Skripsi] Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hassanuddin Makasar.
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology, America
- Radjasa, O. K., Sabdono, A., Junaidi, J., & Zocchi, E. (2007). Richness of Secondary Metabolite-Producing Marine Bacteria Associated with *Spon Haliclona* sp.
- Suparno P. 2005. Miskonsepsi dan Perubahan Konsep Dalam Pendidikan Fisika. Jakarta:Grasindo.
- Tenover, 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria, *The American Journal of Medicine*, **119(6)**: 3-10.
- Thomas, T. R. A., Kavlekar, D. P., & LokaBharathi, P. A. (2010). Marine drugs from spon-microbe association—A review. *Marine Drugs* **8(4)** : 1417-1468.
- WHO. 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. World Health Organization. p 257.
- Zhang, Y., Mu, J., Feng, Y., Kang, Y., Zhang, J., Gu, P. J., & Zhu, Y. H. (2009). Broad-spectrum antimicrobial epiphytic and endophytic fungi from marine organisms: isolation, bioassay and taxonomy. *Marine drugs*, **7(2)** : 97-112.