

***THE POTENCY OF *Mycale vansoesti* SPONGE EXTRACT AND FRACTIONS FROM
MANADO TUA ISLAND WATERS AGAINST THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus*
AND *Escherichia coli****

**POTENSI EKSTRAK DAN FRAKSI SPONS *Mycale vansoesti* DARI PERAIRAN
PULAU MANADO TUA TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus*
aureus DAN *Escherichia coli***

Komang A. M. Widyani^{1)*}, Defny S. Wewengkang¹⁾, Erladys M. Rumondor¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado, 95115

*kamay530@gmail.com

ABSTRACT

*Sponges are one of the coral reefs components that have the potential to produce secondary metabolites with antibacterial, antifungal, and anticancer properties that have not been widely used. This study aims to determine the antibacterial activity of the extract and fractions of *Mycale vansoesti* sponge obtained from Manado Tua Island waters against the growth of *Staphylococcus aureus* as Gram-positive representatives and *Escherichia coli* bacteria as Gram-negative representatives. Samples were extracted using the maceration method with 95% ethanol solvent and fractionated with the liquid-liquid method using 3 types of solvents with different polarities, namely n-hexane, chloroform, and methanol. Antibacterial activity test using the Kirby-Bauer disc diffusion method. The test results showed that ethanol extract, n-hexane fraction, chloroform fraction and methanol fraction from *Mycale vansoesti* sponge sample obtained from Manado Tua Island waters have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with moderate bacterial inhibitory power.*

Keywords: *Mycale vansoesti*, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu komponen penyusun terumbu karang yang berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri, antijamur dan antikanker yang belum banyak dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti* yang diperoleh dari perairan Pulau Manado Tua terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai perwakilan Gram positif dan *Escherichia coli* sebagai perwakilan Gram negatif. Sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% dan difraksinasi bertingkat dengan metode cair-cair menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana, kloroform dan metanol. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar Kirby-Bauer. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform dan fraksi metanol dari sampel spons *Mycale vansoesti* yang diperoleh dari perairan Pulau Manado Tua memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan daya hambat bakteri kategori sedang.

Kata kunci: *Mycale vansoesti*, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Laut merupakan dunia tiga dimensi kompleks yang mencakup sekitar 71% dari permukaan bumi yang menawarkan potensi besar penemuan baru di semua bidang ilmu pengetahuan (Totti *et al.*, 2020). Laut merupakan habitat yang sangat unik dan dinamis. Lautan di bumi adalah rumah bagi beranekaragam organisme yang beradaptasi dengan kondisi laut (Morrissey *et al.*, 2016).

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan garis pantai sepanjang 99.093 km² yang kaya akan terumbu karang dan biota laut lainnya (Liem *et al.*, 2019). Sejak tahun 1980-an perhatian dunia pengobatan mulai terarah ke berbagai macam biota laut sebagai sumber daya yang sangat berpotensi. Spons, moluska, tunikata dan bryozoa merupakan beberapa biota laut yang diketahui dapat menghasilkan senyawa aktif (Wewengkang *et al.*, 2014).

Jenis biota laut yang banyak diteliti ialah spons. Salah satu pusat penyebaran terbesar spons di dunia yang diperkirakan terdapat sekitar 830 spesies tersebar di wilayah laut Indonesia (Liem *et al.*, 2019). Spons merupakan salah satu komponen penyusun terumbu karang yang berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat bioaktif sebagai antibakteri, antijamur dan antikanker yang belum banyak dimanfaatkan (Mengelea *et al.*, 2015).

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang penting di Indonesia. Infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh adanya mikroba patogen dan dapat membahayakan hidup manusia. Bakteri merupakan salah satu penyebab terjadinya penyakit infeksi. Bakteri yang sering menyebabkan infeksi pada manusia adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diatasi dengan penggunaan antibiotik/ antibakteri. Namun seiring berjalannya waktu, terdapat bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik yang semakin memperparah kasus infeksi, misalnya pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Oleh sebab itu, penemuan antibiotika baru sangat diperlukan untuk mengatasi permasalahan tersebut (Utomo *et al.*, 2018).

Pada penelitian sebelumnya (Luntungan *et al.*, 2021), pengujian pada ekstrak etanol,

fraksi kloroform, fraksi n-heksan dan fraksi metanol spons *Mycale vansoesti* yang diperoleh dari perairan Pulau Mantehage Minahasa Utara terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan nilai zona hambat sekitar 6,63 – 8,82 mm yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk mengetahui lebih jauh tentang potensi dari ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti* yang diperoleh dari perairan Pulau Manado Tua terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta membandingkan apakah terdapat perbedaan aktivitas antibakteri dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di perairan Pulau Manado Tua. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi & Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada bulan Oktober 2021 sampai dengan bulan Maret 2022.

Bentuk Penelitian

Penelitian ini berbentuk eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian dimana sampel *Mycale vansoesti* yang diekstraksi dan difraksinasi. Kemudian dilakukan pengujian antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah masker, *handscoon*, kertas label, spidol permanen, jas lab, gunting, pisau, alat *scuba diving*, *zipper lock bag*, botol air mineral kemasan ukuran 600 mL, talenan, *cool box*, gelas ukur, gelas kimia timbangan analitik, erlenmeyer, corong, rotary evaporator, corong pisah, cawan petri, autoklaf, pinset, pembakar spritus, pipet tetes, *microtubes*, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, inkubator, mikropipet, corong *Buchner*, labu

penyaring (*filtering flask*), mistar berskala dan lemari pendingin.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Spons *Mycale vansoesti*, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, etanol, metanol, kloroform, n-heksana, pepton, kertas cakram (*blank paper disc*), kertas cakram kloramfenikol (*chloramphenicol paper disc*), alumunium foil, kertas saring, kapas, tisu, agar dan ekstrak daging (*beef extract*).

Pengambilan Sampel

Sampel Spons *Mycale vansoesti* diambil dari perairan pulau Manado Tua menggunakan alat bantu *scuba diving*. Sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam plastik *zipper lock* dan diletakkan di dalam *cool box* yang berisi es batu dan tidak terpapar sinar matahari secara langsung. Sampel yang diperoleh dibawa ke Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Sampel difoto, diberi label serta penomorasi untuk selanjutnya dideterminasi.

Ekstraksi Sampel

Spons *Mycale vansoesti* diekstrak dengan metode maserasi menggunakan etanol. Sampel yang diperoleh disortasi basah terlebih dahulu untuk memisahkan kotoran atau bahan asing yang tidak diinginkan, dipotong kecil – kecil dan dimasukkan ke dalam wadah (botol ukuran 600 mL). 145 gram sampel yang diperoleh, direndam selama 24 jam menggunakan pelarut etanol 95% hingga terendam seluruhnya. Setelah perendaman selama 24 jam, sampel yang direndam disaring menggunakan kertas saring hingga menghasilkan filtrat 1 dan debris 1. Debris 1 diremaserasi selama 24 jam menggunakan pelarut etanol 95% hingga terendam seluruhnya, kemudian disaring menggunakan kertas saring hingga menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Debris 2 diremaserasi selama 24 jam menggunakan etanol 95% hingga terendam seluruhnya, kemudian disaring hingga menghasilkan filtrat 3 dan debris 3. Filtrat 1, 2 dan 3 yang diperoleh dari proses maserasi digabung menjadi satu kemudian disaring kembali. Setelah disaring, filtrat dievaporasi pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kering (ekstrak kasar) dan selanjutnya ditimbang menggunakan timbangan analitik. Kemudian, ekstrak kasar

Spons *Mycale vansoesti* digunakan pada proses fraksinasi dan pengujian bakteri (Silap *et al.*, 2020).

Fraksinasi

Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi ialah n-heksana, koroform dan metanol. Sebanyak 3 gram ekstrak kasar Spons *Mycale vansoesti* dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dilarutkan dengan 100 mL metanol 80%. Ekstrak kasar yang telah larut, dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 100 mL dan dikocok dalam corong pisah hingga homogen. Kemudian dibiarkan sampai terbentuk lapisan n-heksana dan lapisan metanol, lalu masing – masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksana yang terbentuk dievaporasi hingga kering, kemudian ditimbang dan diperoleh fraksi n-heksana. 100 mL aquadest ditambahkan ke lapisan metanol yang terbentuk dan dipartisi di dalam corong pisah dengan perbandingan 1:1 v/v menggunakan pelarut kloroform dan dikocok kembali hingga homogen. Setelah terbentuk lapisan metanol dan kloroform, masing – masing lapisan ditampung di wadah yang berbeda. Lapisan kloroform yang terbentuk dievaporasi hingga kering, kemudian berat sampel ditimbang dan diperoleh fraksi kloroform. Lapisan metanol dievaporasi hingga kering, kemudian ditimbang dan diperoleh fraksi metanol. Fraksi metanol, kloroform dan n-heksana yang diperoleh digunakan dalam pengujian antibakteri (Luntungan *et al.*, 2021). Menurut Ortez (2005), Rendemen yang diperoleh dalam proses fraksinasi dihitung menggunakan rumus berikut ini.

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

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu. Jarum ose dan pinset disterilisasi dengan cara dibakar dengan pembakaran diatas api langsung. Media dan alat – alat gelas disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit menggunakan autoklaf (Putri *et al.*, 2020).

Pembuatan Media Cair

Pembuatan media cair dilakukan dengan cara mencampurkan ekstrak daging (*beef extract*) sebanyak 0,3 g, 100 mL aquadest, natrium klorida 0,3 g dan 0,5 g pepton hingga homogen kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. 1 mL media cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil. Media cair siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Ortez, 2005).

Kultur Bakteri Uji

Pada media cair yang telah disiapkan sebelumnya, ditambahkan masing – masing 100 µL bakteri yang telah dikultur yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Setiap tabung reaksi ditutup dengan aluminium dan dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam (Ortez, 2005).

Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah *chloramphenicol paper disc* dengan konsentrasi 250 µg/50 µL dan kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut metanol dengan cara membuat larutan stok metanol konsentrasi 250 µg/50 µL metanol kemudian ditotolkan pada blank paper disc (Josua *et al.*, 2021).

Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara melarutkan 1 mg ekstrak kasar Spons *Mycale vansoesti* menggunakan 0,2 mL (200 µL) metanol hingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250 µg/50 µL. Dilakukan perlakuan yang sama pada fraksi metanol, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana (Josua *et al.*, 2021).

Pembuatan Media Agar

Pembuatan media agar dilakukan dengan cara mencampurkan 0,3 g ekstrak daging (*beef extract*), 0,5 g pepton, 0,45 g agar dan 100 mL aquadest hingga homogen kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media agar siap digunakan dalam pengujian 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, kertas 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 (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dipipet dan diinokulasi pada media agar, lalu media agar yang telah diinokulasi dituangkan ke dalam cawan petri dan ditunggu sampai media mengeras. Kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji Spons *Mycale vansoesti* diletakkan menggunakan pinset ke dalam cawan petri dan kemudian diinkubasi selama 24 jam (Josua *et al.*, 2021).

Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Bening

Setelah 24 jam masa inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap pengujian yang dilakukan. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona bening. Pengukuran diameter zona bening 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 (Luntungan *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Sampel

Determinasi spons *Mycale vansoesti* dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi. Tujuan dilakukannya determinasi sampel ialah untuk memperoleh atau mengetahui kebenaran identitas sampel yang ditemukan, sehingga tidak terjadi kesalahan dalam pengumpulan ataupun pengujian sampel yang dilakukan. Hasil determinasi sampel yang diperoleh ialah spons dengan spesies *Mycale vansoesti*.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan tujuan memisahkan atau menyari senyawa aktif yang terkandung dalam spons (Pelealu *et*

al., 2021). Perendaman sampel pada metode maserasi menyebabkan terjadinya perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel spons yang dapat membuat dinding sel pecah/lisis (Josua *et al.*, 2021).

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ialah etanol 95%. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari yang efektif karena bersifat selektif, tidak beracun, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan dan mampu mengekstrak sebagian besar senyawa kimia yang bersifat polar, non polar maupun semi polar yang terkandung dalam sampel (Wewengkang *et al.*, 2014; Sa'adah dan Nurhasnawati, 2017).

Hasil ekstraksi yang diperoleh berupa ekstrak kasar etanol berwarna kuning tua dengan berat 6 gram. Kemudian sebanyak 3 gram ekstrak kasar diambil untuk proses fraksinasi metode cair-cair menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda (pelarut polar, semi polar dan

non polar) secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarut. Pelarut yang digunakan adalah metanol, kloroform dan n-heksana (Luntungan *et al.*, 2021).

Dalam proses fraksinasi bertingkat, terbentuk lapisan pemisah diantara 2 pelarut akibat adanya perbedaan massa jenis. Pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih kecil berada di lapisan bagian atas, sedangkan pelarut yang memiliki massa jenis lebih besar berada di lapisan bagian bawah. Pada proses fraksinasi, diperlukan pengadukan/pengocokan saat pencampuran pelarut. Hal tersebut bertujuan agar masing-masing pelarut dapat menarik senyawa kimia yang memiliki sifat kepolaran yang sama dengan pelarut tersebut. Setelah dilakukan ekstraksi dan fraksinasi, dilakukan perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi yang diperoleh. Hasil perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti*

No	Sampel	Berat (g)	Rendemen (%)	Warna
1	Ekstrak Etanol	6,00	4,14	Kuning tua
2	Frakasi n-Heksana	0,12	4,00	Hijau kecokelatan
3	Frakasi Kloroform	0,07	2,33	Hijau tua
4	Frakasi Metanol	1,63	54,33	Coklat kemerahan

Hasil akhir yang diperoleh adalah ekstrak kasar etanol 95%, fraksi kasar n-heksana, fraksi kasar kloroform dan fraksi kasar metanol 40%. Hasil perhitungan rendemen menunjukkan bahwa ketiga jenis fraksi menghasilkan jumlah rendemen yang berbeda beda, dimana fraksi metanol menghasilkan rendemen yang paling tinggi yaitu 54,33%. Nilai tersebut berbeda jauh dengan persentase rendemen yang dihasilkan oleh fraksi n-heksana dan fraksi kloroform.

Menurut Harborne (1987), tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan menunjukkan banyaknya senyawa aktif yang diperoleh dari suatu sampel. Berdasarkan teori tersebut, dapat disimpulkan bahwa spons *Mycale vansoesti* mengandung lebih banyak komponen bioaktif atau senyawa kimia yang bersifat polar dibandingkan senyawa kimia yang bersifat semi polar maupun non polar.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform dan fraksi metanol spons *Mycale vansoesti* menggunakan metode difusi agar Kirby-Bauer (*disc diffusion Kirby and Bauer*) yang telah dimodifikasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai perwakilan dari Gram positif dan Gram negatif. Penggunaan metode difusi agar Kirby-Bauer dipilih karena ketelitian, kesederhanaan teknik, dapat digunakan pada semua bakteri patogen, pertumbuhan bakteri yang cepat serta sering digunakan dalam pengujian kepekaan antibiotik dalam program pengendalian mutu (Mpila, 2012).

Tujuan penggunaan perwakilan bakteri Gram positif dan Gram negatif adalah untuk menguji apakah sampel *Mycale vansoesti* memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas atau berspektrum sempit (Josua *et al.*, 2021).

Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol (*chloramphenicol paper disc*)

dan kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut metanol yang ditotolkan pada kertas cakram (*blank paper disc*) Pengamatan aktivitas antibakteri dilakukan setelah inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C dengan melakukan 3 kali pengulangan pada setiap ekstrak dan fraksi masing-masing bakteri. Tujuan dilakukannya pengulangan adalah memperoleh hasil pengujian yang lebih akurat (Mujipradana *et al.*, 2018).

Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti* terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 2. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti* terhadap bakteri *Escherichia coli*

Diameter Zona Hambat (mm)						
x	EtOH	n-Hxn	ChCl ₃	MeOH	C+	C-
1	8,41	8,13	8,57	9,22	30,61	-
2	7,90	7,44	9,31	8,35		
3	9,35	9,91	11,04	10,01		
∑	25,66	25,48	28,92	27,58		
\bar{X}	8,55	8,49	9,64	9,19		

Ket: ∑ = total pengukuran, \bar{X} = rata – rata pengukuran

Tabel 2. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi spons *Mycale vansoesti* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Diameter Zona Hambat (mm)						
x	EtOH	n-Hxn	ChCl ₃	MeOH	C+	C-
1	8,67	7,35	8,40	7,52	30,14	-
2	8,40	7,93	9,36	8,36		
3	7,74	8,40	8,92	8,38		
∑	24,81	23,68	26,68	24,28		
\bar{X}	8,27	7,89	8,89	8,09		

Ket: ∑ = total pengukuran, \bar{X} = rata – rata pengukuran

Berdasarkan hasil pengukuran zona bening/zona hambat pada pengujian aktivitas antibakteri yang telah dilakukan, ditemukan aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform dan fraksi dari sampel spons *Mycale vansoesti* yang diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat/zona bening di sekitar kertas cakram. Dari ketiga pengulangan uji antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang dilakukan, diperoleh rata-rata pengukuran diameter zona bening ekstrak etanol sebesar 8,55 mm, fraksi n-heksana sebesar 8,49 mm, fraksi kloroform sebesar 9,64 mm dan fraksi metanol sebesar 9,19 mm. Pada pengujian

aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* diperoleh rata-rata pengukuran diameter zona bening dari tiga kali pengulangan yaitu ekstrak etanol sebesar 8,27 mm, fraksi n-heksana sebesar 7,89 mm, fraksi kloroform sebesar 8,89 mm dan fraksi metanol sebesar 8,09 mm.

Menurut Davis dan Stout (1971), kekuatan daya antibakteri suatu sampel dapat dikategorikan berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk pada pengujian aktivitas antibakteri. Kategori kekuatan daya hambat bakteri menurut Davis dan Stout dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Kategori daya hambat bakteri menurut Davis-Stout

Diameter Zona Bening	Kategori
≥ 20 mm	Sangat kuat
10 – 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

Berdasarkan teori tersebut, sampel spons *Mycale vansoesti* yang diujikan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori daya hambat sedang. Aktivitas antibakteri yang ditimbulkan pada kedua bakteri yang diujikan (Gram positif dan Gram negatif) menunjukkan bahwa sampel spons *Mycale vansoesti* mengandung senyawa antibakteri yang berspektrum luas.

Pada penelitian sebelumnya oleh Luntungan *et al.* (2021), pengujian antibakteri spons *Mycale vansoesti* dari perairan Pulau Mantehage terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh hasil pengukuran diameter zona hambat dengan range nilai 6,63 – 8,82 mm. Sedangkan pada penelitian ini, diperoleh pengukuran diameter zona hambat dengan range nilai 7,89 – 9,64 mm. terdapat sedikit perbedaan hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri, namun daya hambat bakteri masih dalam kategori yang sama yaitu kategori sedang.

Zona hambat atau zona bening yang terbentuk dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan hidup dari spesies tersebut. Faktor-faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi stabilitas senyawa aktif dari suatu sampel ialah pH air, suhu, salinitas, arus air, cahaya dan nutrien yang terkandung di dalam air laut (Tompunu *et al.*, 2022).

Berdasarkan perbandingan hasil penelitian ini dan penelitian sebelumnya, hanya terdapat sedikit perbedaan hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri. Ditinjau dari tempat pengambilan sampel, perairan Pulau Manado Tua dan perairan Pulau Mantehage masih dalam garis pantai yang sama dengan jarak antar pulau yang berdekatan. Sehingga, hal tersebut dapat disebabkan oleh kesamaan/kemiripan lingkungan hidup dari kedua sampel spons.

KESIMPULAN

Jamur Endosimbion Spons Laut *Callyspongia sp.* Terhadap Bakteri

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi kloroform dan fraksi metanol dari sampel spons *Mycale vansoesti* yang diperoleh dari perairan Pulau Manado Tua memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat bakteri kategori sedang.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut untuk mengetahui senyawa-senyawa kimia yang terkandung di dalam spons *Mycale vansoesti*. Sehingga dapat diketahui secara spesifik senyawa antibakteri apa yang terkandung di dalam spons *Mycale vansoesti*.

DAFTAR PUSTAKA

- Davis, W. W., T.R. Stout. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Assay. *Journal of Microbiology*. **22(4)**: 659-665.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-3. Terjemahan Padmawinata, K., Soediro, I. ITB Press. Bandung.
- Josua, E., Wewengkang, D. S., dan Suoth, E. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons *Liosina paradoxa* dari Perairan Pulau Mantehage. *PHARMACON*. **10(3)**: 933-939.
- Liem, J., Bara, R., Sumilat, D., Warouw, V., Losung, F., dan Wantasen, A. 2019. Bioprospeksi Antibakteri Beberapa Jenis Spons Dari Perairan Pangalisang Bunaken. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*. **7(1)**: 7-12.
- Luntungan, B. M., Wewengkang, D. S., dan Rumondor, E. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons *Mycale vansoesti* dari Perairan Pulau Mantehage Minahasa Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*. **10(2)**: 889-896.
- Menggelea, F. P., Posangi, J., Wowor, M. P., dan Bara, R. 2015. Uji Efek Antibakteri

- Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. *eBiomedik*. **3(1)**: 376-380.
- Morrissey, J., Sumich, J. L., & Pinkard-Meier, D. R. 2016. *Introduction To The Biology Of Marine Life*. Jones & Bartlett Learning.
- Mpila, D.A. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* Dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara Invitro [skripsi]. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Mujipradana, V.N., D. S. Wewengkang., dan E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak *Ascidian Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. *PHARMACON*. **7(3)**: 338-347.
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology. America.
- Pealeu, E., Wewengkang, D. S., dan Abdullah, S. S. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons *Leucetta chagosensis* Dari Perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *PHARMACON*. **10(2)**: 834-840.
- Putri, R. A., Simbala, H. E., dan Mpila, D. A. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *PHARMACON*. **9(4)**: 525-532.
- Sa'adah, H., dan Nurhasnawati, H. 2017. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal ilmiah manuntung*. **1(2)**: 149-153.
- Silap, G. E., Wewengkang, D., dan Rotinsulu, H. 2020. Uji Aktivitas Antimikroba Karang Lunak *Dendronephthya Sp.*, Yang Dikoleksi Dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen, Kabupaten Minahasa Tenggara Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida Albicans*. *PHARMACON*. **9(1)**: 63-72.
- Tompunu, V. F., Wewengkang, D. S., dan Rumondor, E. M. 2022. Potensi Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dari Organisme Laut *Stylissa Carteri* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *PHARMACON*. **11(1)**: 1255-1263.
- Totti, C. M., Accoroni, S., Barucca, M., Bianchelli, S., Biscotti, M. A., Calcinai, B., Canapa, A., Corinaldesi, C., Danovaro, R., Camillo, C. G. D., Fanelli, E., Gambi, C., Puce, S., Romagnoli, T., dan Cerrano, C. 2020. *Marine Biology. Biodiversity and Functioning of Marine Ecosystems: Scientific Advancements and New Perspectives For Preserving Marine Life. In The First Outstanding 50 Years of "Università Politecnica delle Marche"*. Springer, Cham. 447-462.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., dan Mulyani, S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4 Metoksifenilkaliks [4] Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. **3(3)**: 109-209.
- Wewengkang, D. S., Sumilat, D. A., dan Rotinsulu, H. 2014. Karakterisasi dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons *Haliclona Sp.* dari Teluk Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. **1(1)**: 71-85.