

***EXTRACT AND FRACTIONS OF *Stylissa carteri* SPONGE FROM WATERS OF MANADO
TUA ISLAND: THE ACTIVITY AGAINST GROWTH OF *Staphylococcus aureus* AND
Escherichia coli BACTERIA***

**EKSTRAK DAN FRAKSI SPONS *Stylissa carteri* DARI PERAIRAN PULAU MANADO
TUA: AKTIVITASNYA TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*
DAN *Escherichia coli***

Gleam Yordan^{1)*}, Defny S. Wewengkang¹⁾, Irma Antasonasti¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA UNSRAT Manado, 95115

*yordangleam@gmail.com

ABSTRACT

*A rise in infections in Indonesia is accompanied by a rise in antibiotics resistance. Biodiversity, especially Indonesian marine natural materials, is considered to have the ability to produce antibacterial compounds that could become antibiotic candidates in the future. This study aimed to determine the antibacterial activity from extract and fractions of the *Stylissa carteri* sponge from the waters of Manado Tua Island against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Extraction performed using ethanol solvent and performed fractionation using n-hexane, chloroform, and methanol solvent. Performed antibacterial test using agar diffusion method (Disc diffusion Kirby and Bauer). The result showed that the ethanol extracts have the biggest inhibition zone against the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria (8,6 mm) and the n-hexane fractions have the biggest inhibition zone against the growth of *Escherichia coli* bacteria (7,386 mm). The result of the antibacterial activity was significantly different since the positive control used had an inhibition zone diameter which was included in the very strong category, whereas the extracts and fractions with the greatest activity had an inhibition zone diameter of only moderate category.*

Keywords: *Stylissa carteri* sponge, antibacterial, extracts, fractions, Disc diffusion Kirby and Bauer.

ABSTRAK

Peningkatan kasus infeksi di Indonesia beriringan dengan peningkatan kasus resistensi terhadap antibiotik. Keanekaragaman hayati khususnya bahan alam kelautan Indonesia dinilai memiliki potensi menghasilkan bahan antibakteri yang dapat dikembangkan menjadi kandidat antibiotik dikemudian hari. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas Antibakteri dari ekstrak dan fraksi spons *Stylissa carteri* dari Perairan Pulau Manado Tua terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut, n-heksan, kloroform, dan methanol. Uji antibakteri menggunakan metode difusi agar (*Disc diffusion Kirby and Bauer*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari spons *Stylissa carteri* memiliki zona hambat paling besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (8,6 mm) dan fraksi n-heksan dari spons *Stylissa carteri* memiliki zona hambat paling besar terhadap bakteri *Escherichia coli* (7,386 mm). Hasil aktivitas antibakteri berbeda signifikan, dimana kontrol positif yang digunakan memiliki diameter zona hambat yang termasuk dalam kategori sangat kuat, sedangkan ekstrak maupun fraksi dengan aktivitas paling besar memiliki diameter zona hambat dengan kategori sedang saja.

Kata kunci: Spons *Stylissa carteri*, antibakteri, ekstrak, fraksi, *Disc diffusion Kirby and Bauer*.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan sebuah negara kepulauan yang sering dijuluki sebagai negara maritim karena luas lautannya melebihi daratan. Oleh karena letaknya berada diantara dua benua dan juga dua samudera. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati dan sumber daya alam yang melimpah (Kadar, 2015). Hal ini menjadikan wilayah kelautan Indonesia mengandung berbagai macam spesies organisme laut baik tumbuhan maupun hewan. Salah satu penyusun komponen kehidupan bawah laut, terutama pada terumbu karang adalah spons. Spons merupakan salah satu biota laut yang mempunyai potensi bioaktif sebagai antibakteri, antikanker, dan antijamur namun masih belum sering dimanfaatkan (Sibarani dkk, 2020).

Di sisi lain, peningkatan pola hidup masyarakat dan peradaban manusia beringan dengan peningkatan infeksi oleh mikroorganisme patogen serta peningkatan kasus resistensi terhadap antibiotik golongan β -laktam (penisilin) oleh bakteri seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Lawani dkk, 2019). *S. aureus* dan *E. coli* merupakan bakteri flora normal tubuh, namun jika populasinya tinggi dan berada di luar habitat aslinya akan mampu memproduksi enterotoksin yang dapat mencemari makanan terutama protein dan menyebabkan keracunan (Mulyatni dkk, 2012).

Hal ini memacu para peneliti dan pengembang obat untuk melakukan eksplorasi sumber bahan antibakteri/antibiotik baru yang dapat menghambat perkembangbiakan bakteri atau bahkan dapat membunuh beberapa jenis bakteri penyebab penyakit (Tinambunan dkk, 2012).

Salah satu spons laut yang sering ditemukan di perairan Indonesia terlebih perairan Sulawesi Utara adalah *Stylissa carteri*. Menurut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, *Stylissa carteri* diketahui mampu memproduksi beberapa senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas *anti-viral* seperti debromohymenialdisine, hymenialdisine, dan oroidin, anti-inflamasi, serta aktivitas anti-kanker yang memiliki sifat sitotoksi seperti senyawa carteritins A (O'Rourke, *et al.*, 2016; Afifi, *et al.*, 2016). Spons *Stylissa carteri* diketahui juga memiliki aktivitas antimikroba/antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus*

megaterium DSM32T, dan jamur *Candida albicans* (Watupungoh C. C. dll, 2019; Palungan I. dll, 2019).

METODOLOGI PENELITIAN

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian ini berupa penelitian eksperimental di laboratorium yang dilakukan dengan cara menguji komponen terekstrak dari spons *Stylissa carteri* sebagai bahan alam antibakteri pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan oktober 2021 sampai Maret 2022 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia dan Laboratorium Lanjutan Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Scuba diving* (peralatan selam), plastik *zipper lock bag*, gunting, sarung tangan, masker, botol air kemasan 600 ml, pisau, talenan, corong pisah, corong gelas, wadah kaca, erlenmeyer, gelas ukur (pyrex), gelas kimia (pyrex), tabung reaksi, rak tabung reaksi, microtubes, cawan petri, timbangan analitik, spatula, oven, pinset, batang pengaduk, pembakar spiritus, pipet tetes, jarum ose, vial, lemari pendingin, *incubator inucell* (N-Biotek), *laminary air flow*, autoklaf (autoklaf KT-30s), mikropipet, jangka sorong, jas lab, kamera, kertas cakram (*paper disc*), kertas label, dan spidol permanen.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu spons *Stylissa carteri*, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, ethanol, akuades, methanol, n-heksan, kloroform, pepton, ekstrak daging, nutrient agar, kloramfenikol (*paper disc*), tissue, aluminium foil, kertas saring, dan kapas.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel spons *Stylissa carteri* diambil dari perairan Pulau Manado Tua menggunakan peralatan selam (*scuba diving*). Sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam *zipper lock bag* dan diletakkan ke 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. Kemudian dibersihkan dan dipotong kecil-kecil, setelah itu dimasukkan ke dalam wadah plastik.

Ekstraksi Sampel

Ekstrak spons *Stylissa carteri* dibuat dengan cara maserasi. Sampel yang sudah dibersihkan dan dipotong kecil-kecil dan 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* pada suhu 40 °C hingga menjadi ekstrak kental dan selanjutnya ditimbang menggunakan timbangan analitik. Selanjutnya ekstrak kental spons *Stylissa carteri* digunakan dalam fraksinasi dan pengujian antibakteri (Ortez, 2005).

Fraksinasi Sampel

Ekstrak kasar spons *Stylissa carteri* 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. Selanjutnya, lapisan metanol ditambahkan akuades sebanyak 100 mL kemudian dipartisi dengan pelarut kloroform sebanyak 200 mL 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. %Rendemen ekstrak dan fraksi dihitung dengan persamaan berat hasil ekstrak/fraksi dibagikan dengan berat sampel segar kemudian dikalikan dengan 100% (Watupongoh *et al.*, 2019).

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian aktivitas antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dengan 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 (Mpila, 2012).

Pembuatan Media Cair B1

Pepton 0,5 g, ekstrak daging (*meat extract*) 0,3 g, natrium klorida 0,3 g, dan aquades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian dibuat homogen menggunakan *magnetic stirrer* lalu diautoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, ukur pH dengan menggunakan kertas pH. Dipipet 1 mL media cair B1, kemudian masukkan dalam tabung reaksi dan tutup dengan aluminium foil. Media cair B1 siap digunakan sebagai media kultur bakteri (Ortez, 2005).

Kultur Bakteri

Media cair B1 yang sudah disiapkan sebelumnya, ditambahkan bersama masing-masing bakteri yang sudah dikultur (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dipipet sebanyak 100 µL kedalam tabung reaksi yang berbeda. Tutup dengan aluminium foil tiap tabung reaksi dan dimasukkan kedalam inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37 °C (Ortez, 2005).

Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif dalam pengujian antibakteri ini menggunakan *kloramfenikol paper disc* yang sudah tersedia. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan pelarut metanol, dengan cara membuat larutan stok

metanol dengan mengambil sebanyak 200 μL metanol kemudian ditotolkan pada kertas cakram.

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan cara 1 mg ekstrak kasar spons *Stylissa carteri* kemudian dilarutkan dalam 200 μL metanol sehingga menghasilkan konsentrasi larutan uji sebesar 250 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$. 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, agar 1,5 g dan aquades sebanyak 100 mL diaduk sampai rata kemudian dibuat homogen menggunakan magnetic stirrer lalu diautoklaf pada suhu 121 $^{\circ}\text{C}$ 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 250 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$ ditotolkan pada masing-masing cakram dengan menggunakan mikropipet. Untuk media agar B1 yang sudah diautoklaf pada suhu 121 $^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit, kemudian dinginkan sampai suhu 40 $^{\circ}\text{C}$. Tuangkan media agar B1 ke cawan petri, Ambil sebanyak 100 μL bakteri yang telah di kultur dalam tabung reaksi, dipipet dan diinokulasi pada media agar B1 dan tunggu sampai media agar B1 mengeras. Masing-masing cawan petri diberi label dan nomor sampel yang sesuai. Letakkan kertas cakram yang telah ditotolkan sampel uji spons *Stylissa carteri* dengan pinset kedalam cawan petri lalu diinkubasi selama 1x24 jam (Ortez, 2005).

Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Daerah pada sekitaran cakram menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat. Diameter zona hambat diukur menggunakan mistar berskala dengan cara diukur diameter zona hambat horizontal ditambahkan dengan diameter zona hambat

vertikal lalu dibagi dua. 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

Determinasi Sampel

Determinasi spons *Stylissa carteri* dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Program Studi Farmasi, Universitas Sam Ratulangi. Determinasi sampel dilakukan agar memastikan sampel yang digunakan sesuai yaitu spons *Stylissa carteri*.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel segar spons *Stylissa carteri* diambil dari perairan pulau Manado Tua, diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan dalam proses ekstraksi karena proses pengerjaannya yang sederhana serta tidak melibatkan pemanasan sehingga zat aktif yang termofobik dari sampel tidak akan rusak. Proses ekstraksi terjadi akibat dari perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel, hal ini memaksa pelarut untuk berpenetrasi ke dalam rongga sel sehingga zat aktif di dalamnya akan terlarut ke dalam pelarut organik yang berdifusi ke dalam sel (Marjoni, 2016).

Pelarut etanol 95% digunakan sebagai larutan penyari karena memiliki sifat selektif, tidak toksis dan bersifat universal sehingga cocok digunakan untuk mengekstrak berbagai senyawa metabolit sekunder (Watupungoh, dkk., 2019). Proses maserasi dilakukan dengan tiga kali pengulangan atau remaserasi selama 3×24 jam, sebagai langkah untuk memaksimalkan proses penarikan sekaligus memastikan seluruh metabolit sekunder dalam sampel segar sudah ditarik seluruhnya (Mujipradana dkk, 2018). Filtrat yang didapat selanjutnya diuapkan pada suhu 40 $^{\circ}\text{C}$ untuk menjaga kandungan kimia ekstrak selama proses penguapan, baru didapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental dari proses ekstraksi selanjutnya difraksinasi untuk memisahkan senyawa-senyawa kimia berdasarkan tingkat kepolarannya menggunakan tiga pelarut yang berbeda. Metode fraksinasi cair-cair yang dilakukan menggunakan pelarut metanol untuk menarik senyawa polar, pelarut kloroform untuk menarik senyawa semi-polar, dan pelarut n-heksan untuk menarik senyawa non polar. Proses

penggojokan dilakukan untuk pertama menyebar ratakan sampel dalam dua pelarut yang tidak tercampur dan kemudian dibiarkan sehingga kembali terbentuk dua lapisan pelarut yang berbeda. Pelarut dengan massa jenis ringan akan berada pada bagian atas corong pisah, sedangkan yang massa jenisnya berat berada pada bagian dasar corong pisah. Hasil fraksinasi kemudian diuapkan Kembali untuk didapatkan ekstrak kental dari masing-masing fraksi.

Hasil dari proses ekstraksi maupun proses fraksinasi menunjukkan warna yang berbeda-beda. Hal ini membuktikan bahwa perbedaan kepolaran pelarut menarik senyawa yang berbeda juga sesuai dengan sifat kepolaran yang dimiliki senyawa tersebut. Berbagai penelitian juga membuktikan bahwa spesies ini memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, dan terpenoid (Gozcelioglu dan Konuklugil, 2012)

Hasil rendemen dari proses ekstraksi dan fraksinasi dari sampel spons *Stylissa carteri* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak dan Fraksi Spons *Stylissa carteri*

No	Sampel	Berat (g)	Rendemen (%)	Warna
1	Ekstrak Etanol	34	6,40	Orange kecokelatan
2	Fraksi n-Heksan	1	5,88	Orange pekat
3	Fraksi Kloroform	1	5,88	Orange
4	Fraksi Metanol	10	58,82	Kuning jernih

Uji Aktivitas Antibakteri

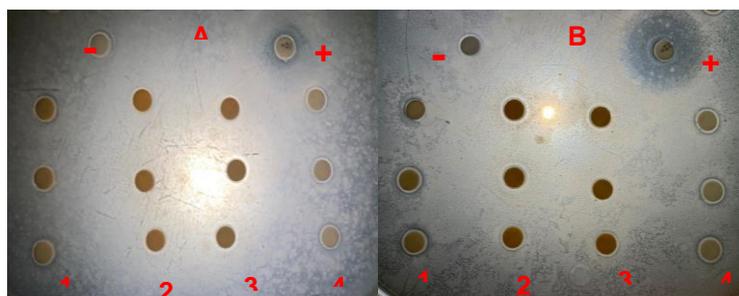
Metode yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar Kirby & Bauer. Mudahnya proses pengujian serta untuk mendapatkan bahan dan alat, menyebabkan metode ini dipilih dalam penelitian ini. Pengujian ini dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang mewakili bakteri Gram positif dan bakteri *Escherichia coli* yang mewakili bakteri Gram negatif, hal ini berkaitan dengan spektrum kekuatan aktivitas antibakteri dari sampel. Aktivitas antibakteri dikatakan berspektrum luas bila mampu menghambat baik pertumbuhan bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif, sedangkan spektrum sempit bila hanya menghambat pertumbuhan salah satu perwakilan bakteri Gram positif maupun Gram negatif (WHO, 2014). Zona hambat yang terbentuk disekitar cakram menggambarkan kekuatan aktivitas antibakteri dari sampel spons *Stylissa*

carteri, hasil pengamatan zona hambat dapat dilihat pada gambar 1.

Pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah media uji sudah diinkubasi selama 1 × 24 jam. Sediaan cakram antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena diketahui sebagai salah satu bahan aktif yang memiliki sifat antibakteri spektrum luas, sedangkan larutan methanol digunakan sebagai kontrol negatif. Kontrol positif dan negatif dalam pengujian ini berguna sebagai pembanding.

Uji aktivitas antibakteri telah dilakukan. Rata-rata diameter zona hambat dari ekstrak dan fraksi spons *Stylissa carteri* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pengukuran zona hambat ekstrak maupun fraksi spons *Stylissa carteri* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh metabolit sekunder dari biota ini. Ukuran zona hambat yang paling besar pada pengujian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, zona hambat terbesar ditunjukkan oleh ekstrak etanol kemudian fraksi kloroform, fraksi n-heksan, dan yang terkecil adalah metanol dengan nilai 8,6 mm, 8,59 mm, 8,36 mm, dan 8,31 mm, sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan oleh fraksi n-



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak dan Fraksi Spons *Stylissa carteri*: (A) *Staphylococcus aureus*, (B) *Escherichia coli*, (1) Ekstrak etanol, (2) Fraksi n-heksan, (3) Fraksi kloroform, (4) Fraksi metanol, (-) kontrol negative, (+) kontrol positif.

heksan, disusul ekstrak etanol, fraksi kloroform metanol, kemudian fraksi kloroform dengan nilai 7,386 mm, 7,08 mm, 6,96 mm, dan 6,89 mm. Setiap zona hambat baik dari ekstrak maupun fraksi spons *Stylissa carteri* memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang (Rastina dkk, 2015).

Diketahui bersama bahwa dinding sel bakteri gram negatif didominasi oleh lipid/lipopolisakarida yang bersifat non polar, hal ini menjelaskan mengapa sampel pada fraksi n-heksan yang juga bersifat non-polar dapat memperlihatkan aktivitas yang besar pada bakteri *Escherichia coli* (gram negatif). Pada pengujian terhadap *Staphylococcus aureus* yang mewakili gram positif, terlihat kemampuan aktivitas dari ekstrak etanol adalah yang paling kuat, hal ini dikarenakan dinding bakteri gram positif yang didominasi peptidoglikan bersifat polar seperti pelarut etanol yang digunakan dalam proses ekstraksi, selain itu kumpulan senyawa hasil ekstraksi juga belum terpisah oleh proses fraksinasi, sehingga diduga meningkatkan efektivitas ekstrak dalam memnunjukan aktivitas antibakteri.

Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dari ekstrak maupun fraksi dari Spons *Stylissa carteri* dari perairan pulau Manado Tua hanya menunjukkan aktivitas dengan kategori sedang, sedangkan sampel Spons *Stylissa carteri* yang diambil dari perairan Selat Lembeh Bitung menunjukkan aktivitas yang yang tergolong sedang (8,14 mm) dan kuat (13.76 mm) pada fraksi metanol (Davis dan Stout, 1971 & Watupungoh, 2019).

Bila dibandingkan dengan hasil penelitian dengan sampel serupa yang berasal dari Teluk Manado, *Stylissa carteri* dari perairan Pulau Manado Tua menunjukkan aktivitas pada semua fraksi dan juga ekstrak sedangkan sampel yang berasal dari perairan Teluk Manado tidak menunjukkan aktivitas pada ekstrak etanol serta fraksi kloroform namun menunjukkan rata-rata zona hambat pada fraksi metanol dengan kategori kuat (10,21 mm) pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan kategori sedang (7,96 mm) pada bakteri *Escherichia coli*. Hal ini membuktikan faktor-faktor *physical oceanography* pada masing-masing lingkungan tempat sampel bertumbuh dapat memengaruhi jenis maupun konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang dieksresi oleh sampel dengan spesies yang sama (Tompunu dkk, 2022).

Dilakukan uji statistik menggunakan metode *Mann Whitney* untuk melihat perbedaan antara tiap-tiap kelompok uji. Hasil yang dapat dilihat pada lampiran 13 menunjukkan bahwa tiap kelompok uji tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan nilai asymp, sig > 0.05, hal ini selaras dengan kenyataan bahwa tiap kelompok uji memiliki diameter zona hambat yang menunjukkan aktivitas pada kategori yang sama. Sedangkan analisis antara kelompok uji dengan kelompok kontrol menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai asymp, sig < 0.05, perbedaan ini menandakan perbedaan efektivitas dari aktivitas yang dihasilkan oleh sampel pada ekstrak maupun fraksi dengan kontrol positif maupun kontrol negatif yang digunakan.

Tabel 2. Hasil Rata-Rata Pengujian Aktivitas Antibakteri

Mikroba		Rata-rata diameter zona hambat (mm)					
		EtOH	n-Hxn	ChCl ₃	MeOH	C+	C-
<i>Ec</i>	I	6,56	6,88	6,48	7,36	20,66	0
	II	7,21	7,18	6,99	6,43		
	III	7,47	8,10	7,21	7,09		
Σ		21,24	22,16	20,68	20,88	20,66	0
\bar{x}		7,08	7,386	6,89	6,96		
<i>Sa</i>	I	8,26	8,65	8,87	8,91	29,08	0
	II	7,93	7,86	8,42	8,15		
	III	9,61	8,57	8,48	7,88		
Σ		25,8	25,08	25,77	24,94	29,08	0
\bar{x}		8,6	8,36	8,59	8,31		

Keterangan: (*Sa*) *Staphylococcus aureus*, (*Ec*) *Escherichia coli*, (EtOH) Ekstrak Etanol, (n-Hxn) Fraksi n-Heksan, (ChCl₃) Fraksi Kloroform, (MeOH) Fraksi Metanol, (Σ) Jumlah zona hambat, (\bar{x}) Rata-rata zona hambat

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa spons *Stylissa carteri* yang dikoleksi dari perairan pulau Manado Tua memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat yang paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* terdapat pada fraksi n-heksan yaitu 7,386 mm (kategori sedang) sedangkan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada ekstrak etanol yaitu 8,6 mm (kategori sedang). Analisis data secara statistik menunjukkan bahwa antar kelompok uji tidak memiliki perbedaan yang signifikan, namun bila dibandingkan dengan kelompok kontrol akan ada perbedaan yang signifikan.

SARAN

Berdasarkan hasil yang didapat dan pembahasan mengenai aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi spons *Stylissa carteri*, maka disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji antibakteri dengan metode pengujian yang berbeda atau dengan menggunakan bakteri uji yang berbeda. Serta lebih lagi mengeksplor senyawa yang berperan dalam hal ini aktivitas antibakteri pada Spons *Stylissa carteri*.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, S.S., Djide, N., Natsir, S. (2021). KLT Bioautografi Hasil Partisi Ekstrak Etanol Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap *Shigella dysenteriae*. *Chem. Prog.* 14(1).15-17

Davis, W. W., T.R. Stout. 1971. Disc plate method of microbiological assay. *Journal of microbiology.* 22: 659-665.

Gozcelioğlu, B., Konuklugil, B., 2012, Qualitative Detection of Some Secondary Metabolites from Three Turkish Marine Sponges, *Fabard J. Pharm. Sci.*, 37: 73-78.

Lawani, V. C., Herny E. I. Simbala, Henki Rotinsulu. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Argadh dari Perairan Desa Tumbak, Minahasa Tenggara Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. *Jurnal Pharmacon*,

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, 3(8):792.

Legi, A.P., Edy, H.J., Abdullah, S. S., (2021), Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Terhadap Bakteri *Staphylococcus*, *Pharmacon*, 10(3), 1058–1065.

Marjoni, R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia*. Jakarta: Trans Info Media.

Mopangga, E., Yamlean, P. V. Y., & Abdullah, S. S. (2021). Formulasi Sediaan Sabun Mandi Padat Ekstrak Etanol Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Pharmacon*, 10(3), 1017–1024.

Mulyatni, A. S., Budiani, A. & Taniwiryo. 2012. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. *Menara Perkebunan* 80(2), 77-84

Mpila, D. A. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus benth*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomas aeruginosa* Secara *Invitro*. Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi: Manado.

Mujipradhana. V. N, D. S. Wewengkang dan E. Suryanto. 2018. *Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak Ascidian Herdmania momus pada Mikroba Patogen Manusia*. Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi: Manado.

Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology.

O'Rourke, A., Stephan Kremb, Theresa Maria Bader, Markus Helfer, Phillippe Schmitt-Kopplin, William H. Gerwick, Ruth Brack-Werner, dan Christian R. Voolstra. Alkaloids from the Sponge *Stylissa carteri* Present Prospective Scaffolds for the

- Inhibition of Human Immunodeficiency Virus 1 (HIV-1). *Mar. Drugs* 2016, 14(2), 28.
- Palungan, I., Robert, A. Bara, Remy, E. P. Mangindaan, Kurniati Kemer, Stenly Wullur, Unstain, N. W. Rembet. Aktivitas Antibakteri Spons *Stylissa carteri* dari Teluk Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*, Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado, **1(10)**:16-17.
- Pelealu, E., Wewengkang, D., & Sumantri, 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.
- Rastina, Minarwati Sudarwanto, Ietje Wientarsih. AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KARI (*Murraya koenigii*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **2(9)**:187.
- Sahuleka, A.S.G., Edy, H.J., Abdullah, S. S., (2021), formulasi Sediaan Krim Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pharmacon*, **10(4)**, 1162–1168.
- Sibarani, S. I. M., Adithya Yudistira, Deby A. Mpila. 2020. Uji Aktivitas ANTIOKSIDAN SPONS *Stylissa sp.* DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). *Jurnal Pharmacon*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, **3(9)**:420.
- Sinrang, V.N.S., Edy, H.J., Abdullah, S.S., (2022), Formulasi Sediaan Obat Kumur Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu L.*), *Pharmacon*, **11(1)**, 1342–1349.
- Susanto, D., Sudrajat dan R. Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie*. **2(11)**: 181-190.
- Tinambunan, H., Melki, dan Isnaini, 2012, Efektifitas Ekstrak Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons dan Karang Lunak sebagai Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. *Maspary Journal*. **4 (2)**: 225-230.
- Tompunu, V. F., Defny S. Wewengkang, Erladys M. Rumondor. 2022. Potensi Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dari Organisme Laut *Stylissa carteri* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon*. **1 (11)**: 1262.
- Watupungoh, C. C. A., Defny S. Wewengkang, Henki Rotinsulu. 2019. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Organisme Laut Spons *Stylissa carteri* yang Dikoleksi dari Perairan Selat Lembeh Kota Bitung. *Jurnal Pharmacon*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, **3(8)**:664-666.
- WHO. 2014. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014*. World Health Organization. p 257.