



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Spons *Callyspongia aerizusa* dari Perairan Pantai Parentek Kecamatan Lembean Timur Kabupaten Minahasa

Christania V. Sigarlaki^{1*}, Defny S. Wewengkang², Gerald E. Rundengan³

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi

*Corresponding author email: christaniasigarlaki@gmail.com

INFORMASI ARTIKEL

Diterima pada 25 April 2024
Disetujui pada 9 September 2024
Dipublikasikan pada 31 Oktober 2024
Hal. 731 - 737

ABSTRACT

Callyspongia aerizusa is one type of sponge that grows in the waters of Indonesia, like sponges in general, this species has a porous body and a hard surface like stone. In addition, *C. aerizusa* can also absorb oxygen from water through the diffusion process. This study aims to determine whether there is antibacterial activity of *C. aerizusa* sponge extract from Parentek Beach Waters, East Lembean District, Minahasa Regency. This study uses the agar diffusion method (Kirby Bauer diffusion discs) and will see the inhibition zone that will be generated based on its category. Based on the results of the research, *C. aerizusa* sponge extract has a diameter of inhibition zone on *Staphylococcus aureus* bacteria 8 mm in a concentration of 250 µg/50 µL and for *Escherichia coli* bacteria it has no inhibition zone.

Keywords : *Callyspongia aerizusa*, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRAK

Callyspongia aerizusa merupakan salah satu jenis spons yang banyak tumbuh di perairan wilayah Indonesia, seperti spons pada umumnya spesies ini memiliki tubuh yang berpori dan permukaan yang keras seperti batu. Selain itu, *C. aerizusa* juga dapat menyerap oksigen dari air melalui proses difusi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antibakteri dari Ekstrak Spons *C. aerizusa* dari Perairan Pantai Parentek, Kecamatan Lembean Timur, Kabupaten Minahasa. Penelitian ini menggunakan metode difusi agar (discs diffusion Kirby bauer) dan akan dilihat zona hambat yang akan dihasilkan berdasarkan kategorinya. Berdasarkan hasil penelitian Ekstrak Spons *C. aerizusa* memiliki diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* 8 mm dalam konsentrasi 250 µg/50 µL dan untuk bakteri *Escherichia coli* tidak memiliki zona hambat yang dihasilkan.

Kata kunci : *Callyspongia aerizusa*, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

DOI: 10.35799/pha.13.2024.55211

PENDAHULUAN

Spons merupakan salah satu kelompok biota laut yang terdapat di perairan Indonesia dengan jumlah 850 jenis dan berpotensi untuk menghasilkan metabolit sekunder memiliki sifat bioaktif (Warbung, 2013). Spons merupakan biota laut yang hidup menetap di dasar perairan, dan memiliki peran cukup penting di dalam ekosistem terumbu karang, selain itu spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif dan belum banyak dimanfaatkan (Sari dkk., 2014).

Callyspongia aerizusa merupakan salah satu jenis spons yang banyak tumbuh di perairan wilayah Indonesia (Hanani, 2005). *C. aerizusa* akan menghasilkan metabolit sekunder berupa steroid, alkaloid, flavonoid dan terpenoid pada dasarnya dimanfaatkan sebagai bahan baku obat (Manggalea dkk., 2015). Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri penyebab infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen, dimana mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan (Paju, 2013).

Staphylococcus aureus merupakan patogen utama bagi manusia dan setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi sepanjang hidupnya (Otto, 2013). *Escherichia coli* merupakan bakteri sangat banyak ditemukan dalam usus besar manusia sebagai flora normal, sifatnya unik dan dapat menyebabkan infeksi pada usus misalnya diare pada anak, infeksi saluran kemih, meningitis pada bayi baru lahir seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh di luar usus (Croxen et al., 2013).

Peningkatan resisten bakteri terhadap antibiotik menjadi suatu hal yang sangat serius, oleh karena itu diperlukan penemuan dan pengembangan bahan obat baru untuk pengobatan antibiotik yang lebih baik (Nusaly dkk., 2023). Berdasarkan latar belakang diatas, maka mendorong penulis untuk melakukan penelitian tentang pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Spons *Callyspongia aerizusa* dari Perairan Pantai Parentek, Kecamatan Lembean Timur, Kabupaten Minahasa.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan alat berupa peralatan selam (Scuba diving), tabung oksigen, plastik zipper lock bag, kamera, sarung tangan, cool box, spidol permanent, botol 600 ml, gunting, pisau, telenan, kertas label, corong gelas, corong buchner, wadah kaca, gelas ukur, gelas kimia, Erlenmeyer (pyrex), rak tabung reaksi, tabung reaksi, cawan petri, spatula, mikropipet, micro tubes, pipet tetes, jarum ose, pinset, timbangan analitik, jangka sorong, magnetic stirrer, kertas cakram (blank paper disc), pembakar spritus, incubator incucell laminary air flow, lemari pendingin, rotary evaporator, dan autoklaf.

Bahan yang digunakan yaitu Spons *Callyspongia aerizusa*, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, etanol 95%, aquades water one, pepton, agar, beef extract, kertas cakram (blank paper disc), kertas cakram kloramfenikol (chloramphenicol paper disc), aluminium foil, es batu, kertas saring, kapas, tissue.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel *Callyspongia aerizusa* diambil dari Desa Parentek, Kecamatan Lembean Timur, Kabupaten Minahasa, dengan menggunakan (Scuba diving), dan tabung udara. Selanjutnya pada kedalaman 5- 10 m di bawah laut, kemudian sampel di dokumentasikan menggunakan kamera

kemudian diambil dan dimasukkan kedalam zipper lock bag kemudian disatukan pada laundry bag dan diberikan penomoran. Setelah itu sampel disimpan dalam cool box yang berisi es batu. Selanjutnya sampel langsung dibawa ke Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi.

Ekstraksi Sampel

Spons *Callyspongia aerizusa* terlebih dahulu disortasi basah dengan cara dibersihkan dan dipotong kecil-kecil, dan kemudian ditimbang dan diperoleh 200 g *C. aerizusa*, dan selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 95% dan sampel dimasukkan ke dalam botol air mineral 600 mL, kemudian direndam menggunakan pelarut etanol 95% sampai semua sampel terendam dengan baik dan dikocok berulang-ulang kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah sampel disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 1 dan residu 1, kemudian hasil filtrat 1 disimpan, sedangkan residu 1 dilanjutkan dengan remaserasi sebanyak 2 x 24 jam dan dihasilkan filtrat 2 dan filtrat 3. Filtrat 1, 2, 3 digabungkan menjadi satu kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring. Kemudian filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40 °C hingga mendapatkan Ekstrak kasar. Selanjutnya Ekstrak kasar spons ini disimpan dan akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Dalam pengujian aktivitas antibakteri digunakan metode difusi agar (disc diffusion kirby and bauer). Pada pengujian ini, cakram (paper disc) yang digunakan berukuran 6 mm dengan daya serap 50 µL tiap kertas cakram. Masukkan kertas cakram kedalam mikro tube yang berisi larutan uji yang telah ditentukan konsentrasinya (250 µg/50 µL). Selanjutnya Media uji yang telah diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C, didinginkan hingga suhu 40 °C. Selanjutnya kedalam cawan petri dituangkan media agar kemudian sebanyak 100 µL bakteri yang telah dikultur yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dipipet dan diinokulasikan pada media agar dan didiamkan hingga media mengeras. Setelah itu kontrol negatif, kontrol positif dan kertas cakram yang sudah mengandung ekstrak *Callyspongia aerizusa* dimasukkan menggunakan pinset ke dalam cawan petri yang telah diberi label serta nomor yang sesuai dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 Jam.

Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat

Pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Diameter zona bening diukur dengan menggunakan digital caliper. Kemudian zona bening yang telah diukur dikategorikan berdasarkan diameter zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Sampel

Spons *Callyspongia aerizusa* disortasi basah terlebih dahulu bertujuan untuk memisahkan kotoran – kotoran yang masih menempel pada sampel. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil untuk memperbesar luas permukaan dari sampel tersebut karena semakin besar luas permukaan maka dapat memperbesar interaksi antara pelarut dengan sampel sehingga hasil maserasi akan didapatkan secara optimal (Nusaly dkk., 2023).

Sampel kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi, metode ini digunakan karena alat yang mudah didapatkan dan proses pengerjaannya yang sangat sederhana. Proses perendaman sampel dengan metode ini dapat membuat dinding sel pecah dikarenakan adanya perbedaan

konsentrasi yang ada pada dalam dan luar sel, sehingga senyawa yang terdapat didalam sampel dapat ditarik oleh pelarut. (Meldha dkk., 2021).

Sampel dimaserasi dengan menggunakan etanol 95%, karena pelarut etanol memiliki sifat selektif, tidak beracun dan bersifat universal yang sangat cocok untuk mengekstrak semua golongan senyawa (Denny dkk., 2022). Etanol 95% bersifat polar serta universal (Makalunsenge dkk., 2022), oleh sebab itu kelebihan penggunaan etanol 95% dalam proses maserasi adalah kemampuannya untuk menghasilkan rendemen ekstraksi yang tinggi dan efektif terlebih pada penelitian ini.

Sampel direndam dengan pelarut etanol 95% hingga semuanya terendam dan dihomogenkan kemudian didiamkan selama 24 jam, bertujuan agar terjadi pemecahan dinding sel karena akibat perbedaan tekanan didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder dalam sitoplasma larut dalam pelarut (Wendersteyt dkk., 2021). Selanjutnya sampel dilakukan maserasi selama 24 jam dan setiap 24 jam filtrat disaring dan dimaserasi kembali dengan menggunakan pelarut yang baru, hal ini disebut remaserasi (Meldha dkk., 2021).

Hasil Filtrat yang telah dihasilkan selama proses remaserasi dievaporasi menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C untuk memisahkan pelarut yang ada. Sampai mendapatkan ekstrak kasar (Kowal, 2018) penggunaan ini bertujuan untuk menguapkan pelarut dan memperoleh senyawa hasil ekstraksi yang diinginkan. (Mengko dkk., 2022).

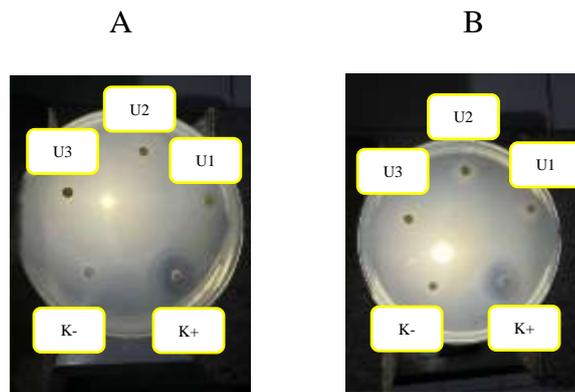
Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Spons *Callyspongia aerizusa*

Sampel	Berat awal Sampel (g)	Massa Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Warna Sampel
Ekstrak Spons <i>Callyspongia aerizusa</i>	200 g	0,86 g	0,43 %	Merah bata

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai gram negatif. Hal ini dikarenakan untuk melihat aktivitas antibakteri dari sampel Spons *Callyspongia aerizusa* dari kedua jenis gram bakteri. Dalam pengujian ini metode yang digunakan yaitu metode difusi agar, karena metode ini mudah untuk dilakukan. (Awaeh dkk., 2022).

Pada Pengujian ini, kertas cakram yang digunakan ialah berukuran 6 mm dan konsentrasi yaitu 250 µg dengan daya serap 50 µL pada setiap kertas cakram. Pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat dilakukan 24 jam masa inkubasi dengan suhu 37 °C, dengan tiga kali pengulangan pada setiap bakteri. Pengulangan ini bertujuan agar supaya bisa memperoleh hasil yang lebih akurat (Nusaly dkk., 2023).



Gambar 1. Pengamatan diameter zona hambat Ekstrak Spons *Callispongia aerizusa*
A. *Staphylococcus aureus*, B. *Escherichia coli*.

Keterangan:

U1 : Ulangan 1, U2 : Ulangan 2, U3 : Ulangan 3

+ : Kontrol Positif - : Kontrol Negatif

Tabel 2. Hasil pengukuran rata-rata zona hambat

Bakteri	Ulangan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)		
		EtOH	C+	C-
<i>S.aureus</i>	I	8	21	0
	II	8		
	III	6		
\sum		24	21	0
\bar{x}		8		
<i>E.coli</i>	I	0	28	0
	II	0		
	III	0		
\sum		0	28	0
\bar{x}		0		

Keterangan:

S. aureus: *Staphylococcus aureus* EtOH :Ekstrak etanol

E. coli : *Escherichia coli* \sum : Total Zona hambat

C+ : Kontrol Positif \bar{x} : Rata-rata zona hambat

C- : Kontrol Negatif

Pada pengujian ini pembanding yang digunakan yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif bertujuan untuk membandingkan pola hambatan dan kemampuan aktivitas antibakteri sedangkan untuk kontrol negatif bertujuan untuk membuktikan bahwa metanol tidak memiliki zat antibakteri (Sari 2019). Kontrol positif menggunakan kloramfenikol karena memiliki sifat bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap organisme - organisme aerobik dan aneorobik gram positif maupun negatif (Pattipeilohy dkk., 2022), Kontrol negatif dalam penelitian ini untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan pada sampel uji, Kontrol negatif yang digunakan adalah metanol (Jolanda dkk., 2019).

Kontrol negatif yang mengandung metanol tidak menghasilkan zona hambat, dengan demikian pelarut yang digunakan tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri sedangkan untuk kontrol

positif dalam pengujian bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat sebesar (21 mm) dan untuk gram negatif yaitu *Escherichia coli* menghasilkan zona hambat sebesar (28 mm). Dari hasil pengujian disimpulkan bahwa kontrol positif yang diuji pada ekstrak Spons *Callyspongia aerizusa* memiliki zona hambat yaitu sangat kuat dan tentunya dapat menghambat bakteri Gram-positif dan Gram-negatif.

Pengujian antibakteri ini memiliki diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* 8 mm dalam konsentrasi 250 µg/50 µL dan dikategorikan sedang karna zona hambat yang dihasilkan dipengaruhi oleh aktivitas senyawa metabolit dari spons *Callyspongia aerizusa* (Nusaly dkk., 2023) dan untuk bakteri *Escherichia coli* tidak memiliki zona hambat yang dihasilkan dengan hasil 0 pada konsentrasi 250 µg/50 µL. Perbedaan hasil aktivitas antibakteri yang telah diperoleh dan dibandingkan dengan penelitian – penelitian sebelumnya disebabkan karena adanya faktor perbedaan tempat, lingkungan dan suhu (Nusaly dkk., 2023).

Berdasarkan penelitian sebelumnya dari (Nusaly dkk., 2023) yang diperoleh dari perairan desa Poopoh, Kabupaten Minahasa bahwa Spons *Callyspongia aerizusa* memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 8 mm pada konsentrasi 250 µg/50 µL dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 9 mm pada konsentrasi 250 µg/50 µL dan termasuk dalam kategori daya hambat sedang, hal ini menunjukkan bahwa spons *C. aerizusa* memiliki aktivitas senyawa metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Penelitian yang dilakukan oleh (Korompis dkk., 2017) mengenai “Uji Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia aerizusa* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella* dan *Staphylococcus epidermidis*” bahwa Ekstrak spons laut *Callyspongia aerizusa* mempunyai daya hambat sedang terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Penelitian yang dilakukan oleh (Meldha dkk., 2021) Spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil dari perairan Pulau Mantehage hanya memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi kloroform dengan kategori daya hambat kuat dengan rata-rata diameter zona bening 11,6 mm pada bakteri *Escherichia coli* dan 13,38 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*, serta pada fraksi metanol dengan kategori daya hambat sedang dengan rata-rata diameter zona bening 9,19 mm pada bakteri *Escherichia coli* dan 9,18 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

KESIMPULAN

Berdasarkan Penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa Ekstrak Spons *Callyspongia aerizusa* dari Perairan Pantai Parentek, Kecamatan Lembean Timur, Kabupaten Minahasa pada bakteri Pada pengujian ini memiliki diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu pada bakteri *Staphylococcus aureus* 8 mm dalam konsentrasi 250 ug dan untuk bakteri *Escherichia coli* tidak memiliki zona hambat yang dihasilkan yaitu 0. Maka Spons *Callyspongia aerizusa* memiliki senyawa metabolit yang menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Awaeh, E. L., Wewengkang, D., & Lebang, J. S. (2022). *Potensi Ekstrak Dan Fraksi Spons Callyspongia Aerizusa Yang Diperoleh Dari Perairan Pulau Manado Tua Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli*. PHARMACON, 11(3), 1574-1582
- Croxen M., Law R.J., Scholz R., Keeney K.M., Wlodarska M, dan Finlay B.B. 2013. *Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic Escherichia coli*. Clinical Microbiology Review 26 (4)

- Denny, R., Yudistira, A., & Mpila, D. A. (2022). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons Styliisa Carteri Dari Pulau Mentehage Minahasa Utara*. PHARMACON, 11(1), 1309-1314.
- Hanani, E., Mun'im, A., & Sekarini, R. (2005). *Identifikasi senyawa antioksidan dalam spons Callyspongia sp. dari Kepulauan Seribu*. *Majalah ilmu kefarmasian*, 2(3), 127-133.
- Jolanda, S., Wewengkang, D. S., & Jayanto, I. (2019). *Aktivitas antimikroba ekstrak dan fraksi alga (Halimeda opuntia) terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. PHARMACON, 8(1), 178-186.
- Kowal, A., Esther, A., Nickson, K., Kurniati, K., Henky, M., & Deiske, H. (2018). *Potensi antibakteri karang lunak lobophytum sp. Dari perairan pangalisang pulau bunaken terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Platax*, 6(2), 89-97.
- Korompis, T. T., Mambo, C. D., & Nangoy, E. (2017). *Uji Daya Hambat Ekstrak Spons Laut Callyspongia aerizusa terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella dan Staphylococcus epidermidis*. *eBiomedik*, 5(2).
- Meldha, M., Wewengkang, D. S., & Mansauda, K. L. (2021). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Spons Callyspongia Aerizusa Dari Perairan Pulau Mantehage Manado*. *Pharmacon*, 10(3), 953-961.
- Mengko, K. R., Wewengkang, D. S., & Rumondor, E. M. (2022). *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Spons Theonella Swinhoei Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus*. PHARMACON, 11(1), 1231-1236
- Nusaly, V. R., Wewengkang, D. S., & Rumondor, E. (2024). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Spons Callyspongia Aerizusa Dari Perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa*. *Pharmacon*, 13(1), 409-418.
- Otto, M. 2013. *Staphylococcal Infections: Mechanisms of Biofilm Maturation and Detachment as Critical Determinants of Pathogenicity**. *Annual Review of Medicine Annu. Rev. Med.* 64(1).
- Paju, N., Yamlean, P. V., & Kojong, N. (2013). *Uji efektivitas salep ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steen is) pada kelinci (Oryctolagus cuniculus) yang terinfeksi bakteri Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 2(1).
- Pattipeilohy, A. J., Umar, C. B. P., & Pattilouw, M. T. (2022). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (Catharantus Roseus) Di Desa Lisabata Terhadap Pertumbuhan*
- Sari, L. R., Sumpono, S., & Elvinawati, E. (2019). *Uji Efektifitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (Hevea Braziliensis) Sebagai Antibakteri Bacillus Subtilis*. *Alotrop*, 3(1).
- Warbung, Y. Y. (2013). *Daya hambat ekstrak spons laut Callyspongia sp terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus*. *e-GiGi*, 1(2).