



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK SPONS *Callyspongia aerizusa* DARI PERAIRAN DESA POPOH KABUPATEN MINAHASA

Viocindy R. Nusaly^{1*}, Defny S. Wewengkang², Erladys M. Rumondor³

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

*Corresponding author email: riskanusaly025@gmail.com

INFORMASI ARTIKEL ABSTRACT

Diterima pada 7 Juli 2023
Disetujui pada 25 November 2023
Dipublikasikan pada 11 Februari
2024
Hal. 409 - 418

Callyspongia aerizusa is one of the sponge species that is spread across the Indonesian marine waters and rich in bioactive compounds such as secondary metabolites that is used in medicine field as antibacterial. The improvement of bacteria resistant has been a serious problem in the medicine field, therefore there should be an improvement of a new antibiotic medicine from natural ingredients for the health improvement. This research aims to find the activity of extracts of sponge *Callyspongia aerizusa* from the waters of Poopoh Village, Minahasa Regency against the growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The growth of bacterial is tested by disc diffusion Kirby Bauer method and by observing the value of generated inhibition zone. From the result of the research, the extracts of *Callyspongia aerizusa* sponge has clear zone against *Staphylococcus aureus* bacteria of 8 mm in the concentration of 250 µg/disc, and the *Pseudomonas aeruginosa* bacteria has 9 mm in the concentration of 250 µg/disc which categorized as medium. It can be concluded that the *Callyspongia aerizusa* sponge has an metabolite compound with wide spectrum activity that can hinder the growth of Gram-negative and Gram-positive bacteria .

Keywords: *Callyspongia aerizusa*, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRAK

Callyspongia aerizusa merupakan salah satu spesies spons yang tersebar di perairan Indonesia serta kaya akan senyawa bioaktif berupa metabolit sekunder yang berguna dalam bidang pengobatan sebagai antibakteri. Peningkatan resisten bakteri sudah menjadi masalah serius dalam bidang kesehatan, maka dari itu perlu dilakukan pengembangan obat antibiotik baru dari bahan alam untuk peningkatan kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi agar (disc diffusion kirby and bauer) dan dilihat besar zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* memiliki diameter zona bening terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 8 mm pada konsentrasi 250 µg/disc dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 9 mm pada konsentrasi 250 µg/disc yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Dapat disimpulkan bahwa spons *Callyspongia aerizusa* memiliki aktivitas senyawa metabolit berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram- negatif dan bakteri Gram-positif.

Kata Kunci: *Callyspongia aerizusa*, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

DOI: 10.35799/pha.13.2024.49230

PENDAHULUAN

Indonesia terletak di daerah tropis sehingga menjadi tempat biota laut berupa terumbu karang hidup dan berkembang. Indonesia memiliki 569 jenis karang atau 67 % dari 845 jenis karang di dunia (Kusuma et al., 2023). Spons dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder yang belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat dalam bidang pengobatan (Damayanti et al., 2020). *Callyspongia aerizusa* adalah spesies spons atau porifera yang tergolong dalam family Callyspongiidae. Spons ini dapat ditemukan hampir diseluruh laut Indonesia sehingga mudah diperoleh (Nurhaniefah, 2022). Spons *C. aerizusa* mengandung senyawa alkaloid, steroid, dan terpenoid (De Sousa et al., 2021), senyawa alkaloid diketahui bersifat sebagai antibakteri (Faiza, 2015).

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat membunuh bakteri penyebab infeksi (Paju et al., 2013). Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram-positif, bakteri ini merupakan salah satu mikroorganisme parasite yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit seperti infeksi kulit, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik (Herlina et al., 2015) dan menyebabkan ketahanan terhadap antibiotik (Hafsari et al., 2015). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ialah bakteri Gram-negatif, bakteri ini bisa jadi bakteri patogen yang berbahaya penyebab infeksi luka pada kulit yang sering terjadi di rumah sakit (Pujiastuti, 2020). *P. aeruginosa* mengakibatkan infeksi luka seperti pada luka sayatan, luka lecet, luka bakar, ataupun pada luka paska pembedahan (Ananto et al., 2015). Peningkatan resisten bakteri terhadap antibiotik sudah menjadi masalah yang serius dalam bidang kesehatan, maka dari itu diperlukan penemuan dan pengembangan bahan obat baru untuk pengobatan dan peningkatan efektivitas antibiotik yang lebih baik. Pemanfaatan bahan alam sebagai obat umumnya dinilai lebih aman serta memiliki efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan penggunaan obat modern (Warbung et al., 2013).

Penelitian sebelumnya yang telah di lakukan oleh (Meldha et al., 2019) mengenai spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari perairan pulau Mantehage Kabupaten Minahasa Utara pada ekstrak etanolnya tidak memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan penelitian yang dilakukan (Awaeh et al., 2022) Spons *C. aerizusa* yang diperoleh dari perairan pulau Manado Tua pada ekstrak etanolnya memiliki aktivitas antibakteri yang termasuk pada kategori zona hambat sedang. Besarnya kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan spons tidak selalu sama dengan jenisnya sehingga akan menghasilkan manfaat yang berbeda, hal ini dikarenakan adanya faktor perbedaan lingkungan, suhu dan sebagainya (Marzuki I, 2018). Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah dari spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 - Mei 2023 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia, Laboratorium Lanjutan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta di Laboratorium Hama dan Penyakit Pada Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi.

Bentuk Penelitian

Bentuk penelitian ini yaitu eksperimen laboratorium untuk uji aktivitas antibakteri ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar (disc diffusion kirby and bauer)

Alat dan Bahan

a. Alat

Dalam penelitian ini digunakan alat berupa peralatan selam (scuba diving), tabung oksigen, plastik zipper lock bag, sarung tangan, cool box, kamera, spidol permanen, jas lab, handscoon, masker, pisau, gunting, telenan, tissue, botol 600 mL, kertas label, corong gelas, corong buchner, wadah kaca, gelas ukur, gelas kimia (pyrex), erlenmeyer (pyrex), rak tabung reaksi, tabung reaksi, cawan petri, pipet tetes, mikropopet, micro tubes, spatula, jarum ose, pinset, timbangan analitik, jangka sorong, magnetic stirrer, pembakar spiritus, kertas cakram (blank paper disc), incubator incucell laminary air flow, lemari pendingin, rotary evaporator, dan autoklaf (autoklaf KT-30s).

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spons *Callyspongia aerizusa*, bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, etanol 95%, aquades water one, natrium klorida, pepton, nutrient agar, media agar (beef extract), kertas cakram (blank paper disc), kertas cakram kloramfenikol (cloramphenicol paper disc), aluminium foil, Es batu, kertas saring, kapas dan juga tissue.

Prosedur Penelitian Pengambilan Sampel

Sampel spons *Callyspongia aerizusa* diambil dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa dengan menggunakan peralatan selam (scuba diving), masker dan juga tabung udara. Dimana pada kedalaman 5 – 10 m di bawah laut, sampel difoto menggunakan kamera kemudian diambil dan dimasukkan kedalam zipper lock bag yang telah diberi 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. Sampel difoto kembali.

Ekstraksi Sampel

Spons *Callyspongia aerizusa* terlebih dahulu disortasi basah dengan cara dibersihkan dan dipotong menjadi ukuran kecil. Sampel ditimbang dan diperoleh 69 g spons *C. aerizusa* selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 95 %. Sampel dimasukkan ke dalam botol 600 mL, kemudian direndam dengan pelarut etanol 95% sampai sampel terendam semuanya dan dikocok berulang-ulang kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah itu sampel disaring menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan filtrat 1 dan residu 1. Hasil filtrat 1 disimpan, sedangkan untuk hasil residu 1 dilanjutkan dengan remaserasi sebanyak 2 x 24 jam dan dihasilkan filtrat 2 dan filtrat 3. Filtrat 1,2 dan 3 yang dihasilkan dari proses maserasi digabungkan menjadi satu kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring. Setelah itu, filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak kasar. Ekstrak ditimbang menggunakan timbangan analitik dan dilakukan perhitungan %rendaman (Silap et al., 2020).

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

(Nahor et al, 2020)

Sterilisasi Alat

Dalam penelitian ini alat – alat yang digunakan terlebih dahulu disterilkan. Untuk alat-alat gelas disterilkan menggunakan autoklaf selama ≥ 15 menit pada suhu 121°C . Sedangkan untuk jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung (pembakaran spiritus) (Putri et al., 2020).

Pembuatan Media Cair

Media cair dibuat dengan cara mencampurkan sebanyak 0,3 g ekstrak daging (meat extract), 0,5 g pepton dan 0,3 g NaCl kedalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 100 mL akuades. Setelah itu ditutup dengan aluminium foil dan dicampur menggunakan magnetic stirrer sampai tercampur sempurna atau homogen. Selanjutnya media cair disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . Setelah itu, dengan menggunakan kertas pH media cair yang diperoleh diukur pHnya. Selanjutnya sebanyak 1 mL media cair dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil (Ortez, 2005).

Kultur Bakteri

Media cair yang telah disiapkan ditambahkan bakteri yang telah dikultur dimana bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan cara dipipet masing-masing sebanyak 100 μL dimasukan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditutup menggunakan aluminium foil dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Ortez, 2005).

Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji dibuat dengan cara ekstrak kasar spons *Callyspongia aerizusa* ditimbang sebanyak 2 mg dan dilarutkan dalam 400 μL metanol kemudian dikocok sampai tercampur sempurna menggunakan magnetic stirrer. Selanjutnya ditambahkan 8 kertas cakram sehingga menghasilkan sebesar 250 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$ konsentrasi larutan uji. (Ortez, 2005)

Pembuatan Media Uji

Sebanyak 100 mL akuades, 0,5 g pepton, 0,3 g beef extract, 0,3 g NaCl, dan 1,5 g nutrient agar dimasukkan kedalam erlenmayer lalu ditutup dengan aluminium foil dan dicampurkan menggunakan magnetic stirrer hingga tercampur sempurna. Selanjutnya diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . Media uji telah siap digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri (Ortez, 2005) Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Pengujian antibakteri dalam penelitian ini digunakan kertas cakram kloramfenikol (cloramphenicol paper disc) sebagai kontrol positif. Sedangkan untuk kontrol negatif digunakan pelarut metanol, dengan cara sebanyak 100 μL larutan metanol dimasukkan kedalam mikrotube lalu ditambahkan kertas cakram (blank paper disc) (Lalamentik, 2017).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Dalam pengujian anktivitas antibakteri digunakan metode difusi agar (disc diffusion kirby and bauer). Pada pengujian ini, kertas cakram (paper disc) yang digunakan berukuran 6 mm dengan daya serap 50 μL . Masukkan kertas cakram kedalam mikrotube yang berisi larutan uji yang telah ditentukan konsentrasinya (250 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$). 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 *Pseudomonas aeruginosa* dipipet dan diinokulasi 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 oC selama 24 Jam (Ortez, 2005).

Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat

Pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi. Diameter zona hambat diukur menggunakan digital caliper. Kemudian zona hambat yang telah diukur dikategorikan berdasarkan (Oroh et al., 2015) menyatakan diameter <5 mm memiliki kekuatan daya hambat lemah, 5-10 mm daya hambat sedang, 10-20 mm daya hambat kuat dan >20 mm memiliki daya hambat sangat kuat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Sampel

Spons *Callyspongia aerizusa* diperoleh dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa pada kedalaman 6 – 10 m di bawah laut. Determinasi spons *Callyspongia aerizusa* bertujuan untuk memastikan dan mengetahui bahwa sampel yang diambil sudah tepat serta untuk mengidentifikasi secara spesifik mengenai spons *C. aerizusa*. Determinasi dilakukan di Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi. Hasil determinasi menunjukkan bahwa spons yang diperoleh untuk diteliti ialah *Callyspongia aerizusa*.

Ekstraksi Sampel

Spons *Callyspongia aerizusa* terlebih dahulu disortasi basah hal ini bertujuan untuk memisahkan kotoran ataupun bahan – bahan asing yang masih menempel pada sampel. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil, bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel sebab semakin besar luas permukaan sampel maka dapat memperbesar interaksi antara pelarut dengan sampel sehingga hasil maserasi yang di dapat akan optimal (Mardiyah, 2014).

Sampel ditimbang dan diperoleh 69 g spons *C. aerizusa* selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi. Digunakan metode ini karena teknik pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta dapat menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam sampel yang bersifat termolabil karena maserasi dilakukan secara dingin tanpa pemanasan (Leba, 2017).

Sampel di maserasi menggunakan pelarut etanol 95%, berdasarkan prinsip *like dissolves like* dimana senyawa-senyawa yang bersifat polar, cenderung larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat non-polar cenderung larut pada pelarut nonpolar (Suryanto, 2012). Etanol 95% termasuk dalam pelarut yang bersifat semipolar sehingga dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar yang terkandung didalam sampel (Mubarak *et al.*, 2018). Sampel direndam dengan pelarut etanol 95% hingga terendam semuanya lalu dikocok berulang – ulang kemudian didiamkan selama 24 jam, ini bertujuan agar terjadinya pemecahan dinding sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma dapat larut sempurna dalam pelarut etanol 95% (Wendersteyt *et al.*, 2021). Setelah itu sampel disaring menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan filtrat 1 dan residu 1. Selanjutnya dilakukan remaserasi sebanyak 2 x 24 jam dan setiap 24 jam disaring dan diganti pelarut etanol 95% yang baru sehingga dihasilkan filtrat 2 dan filtrat 3, dilakukannya remaserasi bertujuan untuk memaksimalkan penarikan kandungan senyawa aktif dari sampel ke pelarut yang masih tertinggal pada saat maserasi sebelumnya (Anjaswati *et al.*, 2021).

Pada proses maserasi diperoleh filtrat yang kemudian dievaporasi dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga didapatkan ekstrak kasar, tujuan dilakukannya evaporasi untuk mengentalkan larutan dimana dalam proses evaporasi pelarut diuapkan sehingga yang tersisa hanya senyawa metabolit yang tidak mudah menguap (Herfianto *et al.*, 2014). Dievaporasi pada suhu 40 °C bertujuan supaya senyawa metabolit tetap terjaga karena pada suhu pemanasan yang tinggi biasanya senyawa aktif tidak bisa bertahan (Kowal *et al.*, 2018). Hasil ekstrak *Callyspongia aerizusa* dan %rendeman yang diperoleh dari proses ekstraksi ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Rendeman Ekstrak *Callyspongia aerizusa*

Sampel	Berat Awal Sampel (g)	Massa Ekstrak (g)	Rendema (%)	Warna Sampel
Ekstrak Callyspongia	69	3	4,34	Merah Bata

Pembuatan Media Cair dan Kultur Bakteri

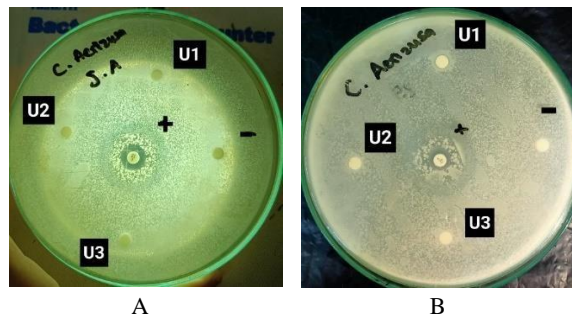
Media cair atau *nutrient broth* merupakan media berbentuk cair yang bertujuan sebagai media pembiakan bakteri. Dalam penelitian ini digunakan 0,3 g ekstrak daging (*meat extract*), 0,5 g pepton, 0,3 g NaCl dan 100 mL akuades sebagai komposisi media cair. Dimana, ekstrak daging sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber nitrogen sehingga kebutuhan nutrisi bakteri terpenuhi (Wahyuningsih and Zulaika, 2018). Selanjutnya disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C bertujuan untuk membunuh mikroorganisme yang dapat mengkontaminasi. Setelah itu diukur pH media cair dan di peroleh 6. Perhitungan pH bertujuan untuk mengetahui faktor penting dalam pertumbuhan bakteri, dimana untuk pertumbuhan bakteri pada umumnya memiliki nilai pH yaitu sekitar 4 - 9 (Suriani *et al.*, 2013). Selanjutnya digunakan 1 mL media cair dan ditambahkan masing – masing 100 µL bakteri lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C yang dimana bakteri akan melakukan pembelahan secara tetap dan jumlah sel meningkat.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Dalam pengujian anktivitas antibakteri digunakan metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and bauer*). Metode difusi agar didasarkan pada efektivitas senyawa antibakteri yang ditandai dengan adanya zona hambat atau zona bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang telah diinokulasi bakteri, dimana zona bening yang terbentuk menunjukkan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri. Kelebihan dari metode ini yaitu pengujian lebih cepat, tidak memerlukan peralatan khusus sehingga mudah untuk dilakukan dan relatif murah (Wendersteyt *et al.*, 2021).

Bakteri uji yang digunakan sebagai bakteri Gram-negatif yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, sedangkan untuk bakteri Gram-positif digunakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penggunaan bakteri uji bertujuan agar dapat mengetahui apakah ekstrak *Callyspongia aerizusa* memiliki aktivitas terhadap kedua bakteri tersebut atau hanya salah satu bakteri saja.

Pada pengujian ini, kertas cakram yang digunakan berukuran 6 mm dan kosentrasi yang digunakan yaitu 250 µg dengan daya serap 50 µL pada setiap kertas cakram. Pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi pada suhu 37 °C dengan tiga kali pengulangan pada setiap bakteri, pengulangan bertujuan supaya dapat memperoleh hasil yang lebih akurat. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengamatan dan Pengukuran

Diameter Zona Hambat Ekstrak *Callyspongia aerizusa*: (A). *Staphylococcus aureus*, (B). *Pseudomonas aeruginosa*, (-) Kontrol negatif, (+) Kontrol positif, (U1) Ulangan satu ekstrak etanol, (U2) Ulangan dua ekstrak etanol, (U3) Ulangan tiga ekstrak etanol. Hasil pengukuran rata-rata zona hambat yang diperoleh dari ekstrak *Callyspongia aerizusa* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rata-Rata Pengujian Aktivitas Antibakteri

Bakteri	Ulangan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)		
		EtOH	C+	C-
<i>S. a</i>	I	7		
	II	8,5	20,5	0
	III	8,5		
Σ		24	20,5	0
\bar{x}		8		
<i>P. a</i>	I	10,5		
	II	8,5	22	
	III	8		
Σ		27	22	0
\bar{x}		9		

Keterangan: (*S.a*) *Staphylococcus aureus*, (*P.a*) *Pseudomonas aeruginosa*, (C-) Kontrol negatif, (C+) Kontrol positif, (EtOH) Ekstrak etanol, (Σ) Total zona hambat

Pada pengujian ini pembandingan yang digunakan adalah kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif digunakan untuk membandingkan daya hambat antara obat antibakteri dengan ekstrak *Callyspongia aerizusa*. Antibiotik yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu kloramfenikol karena kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri yang besar atau berspektrum luas. Sedangkan untuk kontrol negatif digunakan kertas cakram yang sudah mengandung metanol. Kontrol negative bertujuan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Dari hasil pengamatan, kontrol negatif pada pengujian ini tidak menghasilkan zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri sehingga pada pengujian ini aktivitas antibakteri yang dihasilkan hanya berasal dari aktivitas senyawa metabolit ekstrak spons *Callyspongia aerizusa*. Sedangkan untuk hasil pengamatan kontrol positif dalam pengujian terhadap bakteri Gram-positif (*Staphylococcus aureus*)

menghasilkan zona hambat (20,5 mm) dan untuk bakteri Gram-negatif (*Pseudomonas aeruginosa*) menghasilkan zona hambat (22 mm) sehingga berdasarkan kategori zona hambat

(Oroh *et al.*, 2015) maka dapat disimpulkan bahwa kontrol positif yang diuji pada kedua bakteri memiliki zona hambat sangat kuat dan berspektrum luas dimana dapat menghambat bakteri Gram-negatif dan Gram-positif.

Dalam pengujian aktivitas antibakteri ini, diameter zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak *Callyspongia aerizusa* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 8 mm pada konsentrasi 250 µg dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 9 mm pada konsentrasi 250 µg, zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh aktivitas senyawa metabolit yang berasal dari spons *C. aerizusa*. Maka berdasarkan kategori zona hambat (Oroh *et al.*, 2015) ekstrak *C. aerizusa* memiliki diameter zona hambat kategori sedang serta berspektrum luas, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak spons *C. aerizusa* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif maupun bakteri Gram-negatif.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Meldha *et al.*, 2019) mengenai spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari perairan pulau Mantehage Kabupaten Minahasa Utara pada ekstrak etanolnya tidak memiliki aktivitas antibakteri. Sedangkan pada penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat kategori sedang. Perbedaan hasil aktivitas antibakteri yang diperoleh dibandingkan penelitian sebelumnya dapat disebabkan karena adanya faktor perbedaan tempat, lingkungan maupun suhu. Didukung oleh pernyataan (Marzuki I, 2018) bahwa besarnya kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan spons tidak selalu sama dengan jenisnya sehingga akan menghasilkan manfaat yang berbeda.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa memiliki diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 8 mm pada konsentrasi 250 µg dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 9 mm pada konsentrasi 250 µg termasuk dalam kategori daya hambat sedang. Hal ini menunjukkan bahwa spons *C. aerizusa* memiliki aktivitas senyawa metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian maka perlu dilakukan skrining fitokimia dan isolasi senyawa untuk mengetahui secara spesifik senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam spons *Callyspongia aerizusa* serta perlu dilakukan fraksinasi untuk melihat aktivitas antibakteri pada fraksi polar, non polar ataupun semi polar.

DAFTAR PUSTAKA

- Ananto, F.J., Herwanto, E.S., Nugrahandhini, N.B., Najwa, Y.C., Abidin, M.Z., Suswati, I. 2015. *Gel Daun Kelor Sebagai Antibiotik Alami Pada Pseudomonas Aeruginosa Secara In Vivo*. *Pharmacy*. **12(1)**
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., Nirwana, A.P. 2021. *Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol, Fraksi nHeksana, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (Beta vulgaris L.) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat*. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*. **2(1)**

- Awaeh, E.L., Wewengkang, D.S., 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)**.
- Damayanti, A., Ilyas, A., Firnanelty. 2020. *Senyawa Golongan Alkaloid dari Ekstrak Etanol Spons Stylotella sp. Asal Kepulauan Selayar*. *Alchemy: Journal Of Chemistry*. **8(2)**: 12-15
- De Sousa, L.H.N., De Araújo, R.D., Sousa- Fontoura, D., Menezes, F.G., Araújo, R.M. 2021. *Metabolites from Marine Sponges of the Genus Callyspongia: Occurrence, Biological Activity, and NMR Data*. *Journal Marine Drugs*. **19(12)**: 663.
- Faiza, F. 2015. *Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Spons Callyspongia Sp. Perairan Biak Papua*. [Skripsi]. Bandar Lampung: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Hafsari, A. R., Cahyanto, T., Sujarwo. T., Lestari,R. I. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea Indica (L.) Less.) Terhadap Propionibacterium Acnes Penyebab Jerawat* [Skripsi]. Bandung: Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati.
- Herfianto, P.N., Nurhuda, M., Yuana, F. 2014. *Pengaruh Durasi Evaporasi Etanol Low Grade Terhadap Kadar Etanol Pada Residu Hasil Evaporasi*. *Brawijaya Physics Student Journal*. **1(1)**
- Herlina, N., Fifi, A., Aditia, D.C., Poppy, D.H., Qurotunnada., Baharuddin, T. 2015. *Isolasi Dan Identifikasi Staphylococcus Aureus Dari Susu Mastitis Subklinis Di Tasikmalaya*. Jawa Barat: Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon. **1(3)**: 413-417.
- Kowal, A., Esther, A., Nickson, K., Kurniati, K., Henky, M., Deiske, H. 2018. *Potensi antibakteri karang lunak lobophytumsp. Dari perairan pangalisang pulau bunaken terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Platax*. **6(2)**.
- Kusuma, A.H., Muhaemin, M., Mayagues, M., Efendi, E. 2023. *Rehabilitasi Ekosistem Terumbu Karang Menggunakan Terumbu Buatan Di Perairan Desa Kunjir, Kecamatan Rajabasa, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung*. *Jurnal Pengabdian Fakultas Pertanian Universitas Lampung*. **2(1)**: 280 – 293
- Lalamentik, G. 2017. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak Klyxum Sp. Yang Diperoleh Dari Teluk Manado*. [Skripsi]. Manado: Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi.
- Leba, M.A.U. 2017. *Buku Ajar: Ekstraksi dan Real Kromatografi. Cetakan Pertama*. Yogyakarta: CV. Budi Utama
- Mardiyah, U., Fasya, G.A., Fauziyah, B., Amalia, S. 2014. *Ekstraksi Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah Eucheuma spinosum dari Perairan Banyuwangi*. *Jurnal Achemy*. **3(1)** : 42
- Marzuki, I. 2018. *Eksplorasi Spons Indonesia Seputaran Kepulauan Spermonde*. Makasar: Penerbit Nas Media Pustaka
- Meldha., Wewengkang, D.S., Mansauda, K.L.R. 2021. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Spons Callyspongia Aerizusadari Perairan Pulau Mantehage Manado*. *Pharmacon*. **10(3)**
- Mubarak., Fhahri., Sartini., Purnawati, D. 2018. *Effect of Ethanol Concentration on Antibacterial Activity of Bligo Fruit Extract (Benincasa hispida Thunb) to Salmonella typhi*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Technology*. **5(3)**: 77
- Nahor, E.M., Rumagit, B.I., Tou, H.Y. 2020. *Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (Cordyline fyticosa L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi*. *Poltekkes Kemenkes Manado*. **1(1)**: 40
- Nurhaniefah, A.A., Sagitasa, S., Aulia, S., Hadisaputri, Y.E. *Callyspongia sp.: Secondary*

- Metabolites, Pharmacological Activities, and Its Mechanisms*. Indonesian Journal of Biological Pharmacy. **2(2)**: 104-120
- Oroh, S.B., Kandou, F.E.F., Pelealu, J., dan Pandiangan, D. 2015. *Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Selaginella delicatula dan Diplazium dilatatum terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus dan Escherichia Coli*. Jurnal Ilmiah Sains. **15(1)**: 52–58.
- Ortez, J. H. 2005. *Disk Diffusion testing in manual of antimicrobial susceptibility testing*. Marie B. Coyle (Coord. Ed). American society for Microbiology. America.
- Paju, N., Yamlean, P.V., Kojong, N. 2013. *Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia Steenis.) Pada Kelinci (Oryctolagus Cuniculus) Yang Terinfeksi Bakteri Staphylococcus Aureus*. Pharmacon **2(1)**: 51–61.
- Pujiastuti, N.I. 2022. *Uji Aktivitas Antibakteri Pseudomonas Aeruginosa Dan Stabilitas Fisik Gel Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera) Dengan Metode Ultrasonik*. [Skripsi]. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Putri, R.A., Simbala, H.E., 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
- Silap, G.E., Wewengkang, D.S., Rotinsulu. H. 2020. *Uji Aktivitas Antimikroba Karang Lunak Dendronephtya Sp. yang Dikoleksi dari Desa Tumbak Kecamatan Pusomaen, Kabupaten Minahasa Tenggara terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus, dan Candida albicans*. Pharmacon. **9(1)**: 64-65.
- Suriani, S., Soemarno., Soeharjono. 2013. *Pengaruh Suhu dan pH terhadap Laju pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Anggota Genus Pseudomonas yang diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen di sekitar Kampus Universitas Brawijaya*. Jurnal Pembangunan dan Alam Lestari. **3(2)**: 1-5.