

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI DIKLOROMETANA DARI EKSTRAK BAKTERI SM4 YANG BERSIMBIOSIS DENGAN SPONS *Stylissa massa*

Noviana Animra Liem¹, Jefry Presson^{1*}, Sefrinus Maria Dolfi Kolo¹ dan Lukas Pardosi²

Received:
18th August 2022,
Accepted:
28th November 2022
Published:
15th September 2023

DOI: 10.32938/jcsa.v1i2.3148

¹Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan Universitas Timor, Kefamenanu-Indonesia

²Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Sains dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu, Indonesia.

*Email: pressontimor@gmail.com

Abstrak

Penelitian tentang uji antibakteri dari bakteri yang bersimbiosis dengan spons *Stylissa massa* telah berhasil dilakukan. Spons *Stylissa massa* diperoleh dari perairan Oenggae, Pulau Rote dengan metode yang digunakan untuk isolasi bakteri adalah metode pengenceran berseri, fraksinasi dengan pelarut diklorometana, uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dan identifikasi senyawa menggunakan GC-MS. Salah satu bakteri simbiosis yang diisolasi dari spons *Stylissa massa* adalah Isolat bakteri SM4 yang menunjukkan adanya aktivitas antagonis terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Analisis komponen senyawa dengan GC-MS menunjukkan tiga senyawa dominan yaitu senyawa 2-Pentanone, 4-hydroxy- 4-methyl, Oxylene (Benzene, 1,2 dimethyl) dan 2,4 dihydroxybenzaldehyde dengan kelimpahan berturut-turut sebesar 51,30 %, 2,79%, dan 1,22 %. Uji aktivitas antibakteri ekstrak diklorometana isolat bakteri SM4 tergolong sangat kuat, dengan diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 12,60 mm dan *Escherichia coli* sebesar 11,36 mm.

Kata kunci: Antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Spons, *Stylissa massa*

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh proses invasi serta pembiakan mikroorganisme yang terjadi di jaringan tubuh manusia yang dapat mengakibatkan penyakit. Bakteri penyebab penyakit dan infeksi yang banyak ditemui di lingkungan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut seperti pneumonia, penyakit kulit, radang paru-paru dan endokarditis, infeksi pada saluran pencernaan yang menyebabkan diare dan infeksi saluran kemih¹. Sejauh ini penggunaan antibiotik menjadi solusi untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen penyebab infeksi, namun penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol dan tidak tepat menyebabkan mikroorganisme patogen menjadi resisten terhadap antibiotik. Media Indonesia melaporkan angka kematian akibat resistensi antimikroba mencapai 1,27 juta orang pada tahun 2021, sehingga diperlukan penemuan senyawa antibakteri baru menjadi upaya dalam mengurangi masalah resistensi bakteri.

Wilayah lautan Indonesia memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia dengan berbagai macam biota-biota laut yang sangat berpotensi sebagai bahan baku obat. Berbagai penelitian menunjukkan biota laut memiliki potensi yang sangat besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa aktif yang dapat digunakan untuk berbagai bahan baku obat-obatan². Salah satu biota laut yang jumlahnya sangat banyak di lautan Indonesia ialah spons laut yang memiliki potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan.

Spons merupakan salah satu hewan yang berasal dari filum porifera dan juga merupakan invertebrata laut yang hidup pada ekosistem terumbu karang³. Senyawa-senyawa metabolit yang dihasilkan spons laut antara lain peptida, terpenoid, steroid, asetogenin, alkaloid, halida siklik dan senyawa nitrogen yang memiliki aktivitas farmakologis seperti antifouling, antitumor, anti-inflamasi, antivirus, dan antibakteri. Bakteri yang bersimbiosis dengan spons dan karakteristik senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis dapat digunakan untuk memproduksi

berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri dalam jumlah besar.

Penelitian terdahulu⁴ mengisolasi bakteri simbiosis A23 dan A25 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari spons *Alpisina* sp. asal perairan Pulau Tegal Lampung. Peneliti lain⁵ mengisolasi bakteri simbiosis X2 dari spons *Xestospongia testudinaria* asal Pantai Pasir Putih Situbondo menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian sebelumnya menggunakan Spons *Stylissa massa* asal perairan Oenggae Pulau Rote yang berpotensi sebagai agen antimalarial fraksi 8, 11, 12 dan 14 dengan nilai LC₅₀ berturut-turut 82, 93, 105 dan 96 µg/mL, fraksi 14 mengandung senyawa *ectyoplaside B*, *hymenamide C*, dan *hymenamide H*⁶.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis-jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak diklorometana bakteri SM4 yang bersimbiosis dengan spons *Stylissa massa* melalui isolasi dan karakterisasi. Mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dari ekstrak senyawa bakteri simbiosis, dan identifikasi senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri menggunakan Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GCMS).

2. Metodologi

2.1 Bahan

Sampel yang digunakan adalah spons *Stylissa massa* berwarna jingga, pelarut diklorometana, media agar (Natrium Agar, Natrium Broth, Muller Hinton Agar), aquades, alkohol 70 %, tisu, kapas, aluminium foil, wrapping, spritus, bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2.2 Alat

Alat yang digunakan adalah autoklaf, inkubator, oven, hot plate, alat-alat gelas laboratorium, timbangan analitik, rak tabung reaksi, bunsen, kertas cakram, pipet mikro, lumpang, jangka sorong.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Pengambilan Sampel

Spons *Stylissa massa* diambil dari Perairan Oenggae, Pulau Rote - NTT. Sampel kemudian dibersihkan dari materi asing dan organisme lain lalu dimasukkan ke dalam coolbox

2.3.2 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan untuk meminimalkan adanya pengotor dan sebagai persiapan sampel agar layak untuk diuji. Spons dicuci bersih dengan aquades, kemudian digerus menggunakan lumpang hingga halus. Spons yang tersisa digunting kecil-kecil kemudian dicuci dengan aquades dan dilanjutkan dengan metode isolasi.

2.3.3 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri bertujuan untuk memisahkan bakteri yang satu dengan lainnya dan untuk mendapatkan biakan murni yang tidak terlalu padat dan mewakili semua jenis bakteri dari sampel. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode pengenceran berseri sebanyak tiga kali (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan kedalam 9 ml air laut steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} sampel digojok hingga homogen, sebanyak 1 ml hasil pengenceran 10^{-1} dimasukkan kedalam 9 ml air laut steril sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} , dan sebanyak 1 ml hasil pengenceran 10^{-2} dimasukkan kedalam 9 ml air laut steril, kemudian digojok hingga homogen dan didapatkan pengenceran 10^{-3} . Ekstrak sampel yang diencerkan kemudian dikultur kedalam media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam⁷.

2.3.4 Uji Antagonis Bakteri Simbiosis Terhadap Bakteri Patogen

Pengujian ini dilakukan dengan membuat suspensi bakteri dengan cara mengambil satu lup ose isolat bakteri kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi aquades dan digocok hingga keruh. Selanjutnya ditimbang 19 gram media MHA, dimasukkan kedalam 500 mL aquades dan dipanaskan hingga mendidih pada hotplate, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, dituang media pada cawan petri dan digores bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kertas cakram steril direndam dalam hasil suspensi dan diletakkan pada media MHA yang telah digoresi oleh bakteri uji kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diukur zona hambatnya⁸.

2.3.4 Kultur Bakteri SM4

Ditimbang 10 gram media NA, dimasukkan kedalam 500 mL aquades dan dipanaskan hingga mendidih pada hotplate, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, dituang media pada cawan petri dibiarkan memadat dan diambil isolat bakteri SM4 dengan jarum ose dan digores pada media kemudian diinkubasi selama 24 jam. Ekstraksi senyawa bioaktif bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa bioaktif dari sampel isolat bakteri. Ditimbang media NB sebanyak 8 gram dan dilarutkan dengan 1000 mL aquades. Selanjutnya diambil isolat bakteri SM4 sebanyak 5 lup ose dan dikulturkan kedalam media NB kemudian dishaker selama 72 jam⁹.

2.3.5 Ekstraksi Senyawa Bioaktif Isolat Bakteri SM4

Ekstraksi dilakukan dengan corong pisah yang bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa dari ekstrak bakteri. Media NB yang telah dikulturkan bakteri isolat SM4 ditambahkan dengan pelarut diklorometana kemudian digojok dan didiamkan selama 1 jam. Selanjutnya dipisahkan pelarut diklorometana dengan media 12 NB, disimpan ekstrak sebanyak 5 mL kedalam botol vial untuk pengujian GC-MS kemudian hasil ekstrak dievaporasi dengan cara distilasi agar didapatkan ekstrak kental untuk pengujian antibakteri (Dwijendra *et al.*, 2014).

2.3.6 Uji Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* untuk mengetahui daya hambat ekstrak senyawa bioaktif bakteri SM4 menggunakan metode cakram dengan kontrol positif menggunakan kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan diklorometana. Selanjutnya sebanyak 15 mL media NA dituang kedalam cawan petri, dibiarkan memadat, kemudian digores bakteri patogen. Kertas cakram yang disiapkan dicelup kedalam ekstrak kental dan diletakkan disetiap sisi cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selanjutnya diukur zona hambatnya menggunakan jangka sorong¹⁰.

2.3.7 Analisis GC-MS

Ekstrak diklorometana Bakteri dianalisis menggunakan instrumen GC-MS pada sistem GCMS-QP 2010 plus dengan kondisi analisis sebagai berikut: Sebanyak 8 µL sampel diinjeksikan ke mesin AOC-20i. Temperatur oven yang digunakan adalah 80°C dengan suhu injeksi 250°C. Kecepatan aliran 1,46 mL/menit dan kecepatan linear 44,5 cm/detik. Gas pembawa menggunakan helium dengan tekanan 100 kPa, total laju 588,8 mL/menit dan split ratio sebesar 400. Jumlah puncak (peak) pada kromatogram menunjukkan jumlah senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Komponen yang di elusi akan terdeteksi pada detektor massa sedangkan nama/jenis senyawa dan berat molekul yang diketahui akan tersimpan di library NIST¹¹.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik Spons

Spons diambil dari Perairan Oenggae, Pulau Rote Nusa Tenggara Timur (NTT) pada kedalaman sekitar 2-10 meter. Sampel spons yang diambil dicuci bersih kemudian disimpan didalam coolbox. Spons asal perairan Oenggae pulau Rote merupakan *Stylissa massa* (Gambar 1) memiliki bentuk yang tebal, berwarna oranye, permukaan yang tak teratur. Telah dinyatakan bahwa *Stylissa massa* memiliki warna kuning muda sampai dengan oranye, berukuran panjang 7-20 cm, dan diameter 5-11 cm¹². Hal ini relevan dengan penelitian lain bahwa spons *Stylissa massa* merupakan spons yang berwarna kuning dengan ukuran 5-10 cm dan diameter 5-8 cm¹³.



Gambar 1. Spons *Stylissa massa* Oenggae-Pulau Rote
Sumber : Dokumentasi pribadi

3.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Simbion

Isolasi bakteri simbion bertujuan untuk memisahkan bakteri dan mendapatkan biakan murni dari sampel. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa bakteri simbion merupakan mikroorganisme yang dapat mensintesis senyawa metabolit sekunder yang sama dengan organisme inangnya³. Metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara mengisolasi bakteri simbion tersebut. Salah satu isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari spons *Stylissa massa* adalah isolat dengan kode SM4 yang ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Isolat Bakteri SM4

Bakteri simbion SM4 yang diisolasi dari spons *Stylissa massa* dikarakterisasi berdasarkan bentuk koloni, ukuran, warna dan morfologi yang dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri SM4 yang Diisolasi dari Spons *Stylissa massa*

Kode Isolat	Warna	Bentuk Koloni	Elevasi	Ukuran	Tepi Koloni
SM4	Kuning	Bulat	Datar	Kecil	Rata

Isolat bakteri simbion yang berasosiasi dengan spons memiliki karakteristik morfologi yang memperlihatkan warna koloni yang dihasilkan yaitu jingga, kuning, dan putih dengan bentuk bundar dengan inti ditengah. Tepian isolat berbentuk licin, tak beraturan, dan berlekuk dengan elevasi cembung, elevasi seperti tetesan, timbul, dan berbukit-bukit⁴.

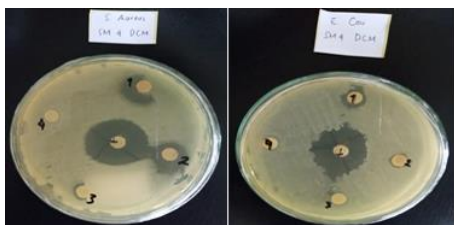
3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Diklorometana Isolat Bakteri SM4

Pengujian antibakteri dengan metode difusi cakram dilakukan terhadap 2 mikroba uji yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Media Agar yang telah dibuat digunakan untuk pembiakan bakteri uji yang digunakan. Bakteri uji yang telah dibiakkan digores pada media agar yang telah disiapkan. Kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak diklorometana SM4, kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (pelarut diklorometana) diletakkan pada media yang berisi goresan bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan diukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong. Adapun hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak diklorometana SM4 disajikan dalam tabel 2.

Table 2. Pengukuran diameter zona hambat sampel terhadap bakteri uji

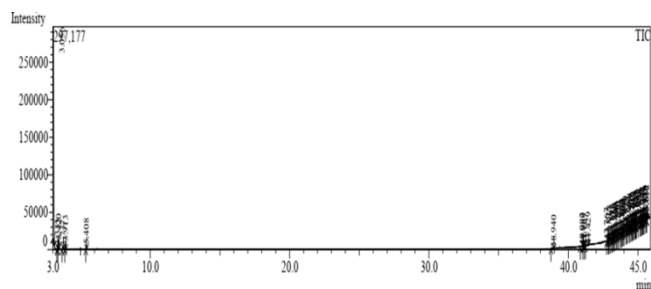
Ulangan	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	15,27	14,12
2	9,22	14,50
3	9,60	9,20
Rata-rata	11,36	12,60
Kontrol Positif	18,64	19,40
Kontrol Negatif	0	0

Berdasarkan data dari tabel 1 diatas, ekstrak senyawa bioaktif dari isolat bakteri SM4 menggunakan pelarut diklorometana dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat berturut-turut adalah 11,36 dan 12,60 mm dan diklasifikasikan sebagai zona hambat sangat kuat. Davis & Stout, (1971) mengatakan kekuatan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dikelompokkan menjadi lemah, sedang dan sangat kuat. Zona hambat sebesar 0-5 mm untuk kategori lemah, 5-10 mm untuk kategori sedang dan 10-20 mm untuk kategori sangat kuat. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan ditandai dengan adanya zona bening disekitar cakram (gambar 2) pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

**Gambar 3.** Uji aktivitas antibakteri fraksi DCM SM4 terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

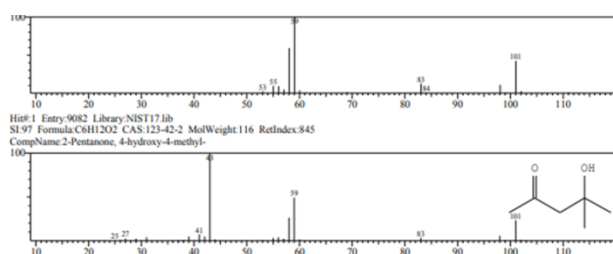
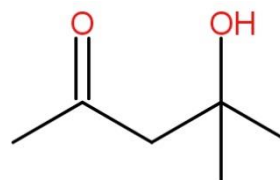
3.4 Analisis Senyawa Bioaktif dengan GCMS

Analisis senyawa bioaktif antibakteri ekstrak diklorometana SM4 dari spons *Stylissa massa* dengan instrumen GCMS ditunjukkan pada gambar 4.

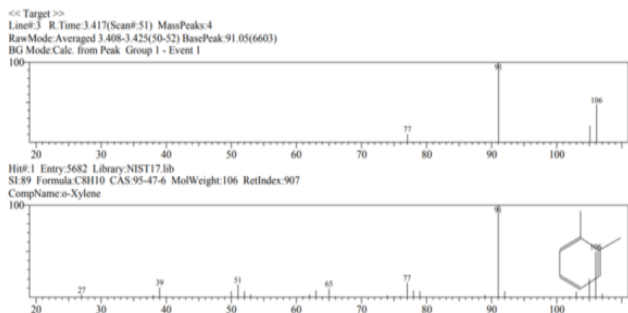
**Gambar 4.** Kromatogram ekstrak diklorometana spons *Stylissa massa*

Hasil GC-MS ekstrak diklorometana SM4 memperlihatkan terdeteksinya 50 puncak yang mengindikasikan 50 senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Dari 50 puncak senyawa, hanya 3 puncak senyawa (Puncak 1, 2, dan 48) yang dapat dianalisis berdasarkan database MS. Analisis puncak yang memiliki kecocokan dengan database NIST17.lib.

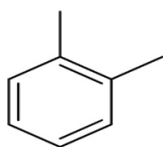
Senyawa dengan kelimpahan paling besar adalah senyawa dengan rumus molekul $C_6H_{12}O_2$ dan berada pada puncak retensi 3,050 menit. Data spektrum menunjukkan puncak ion molekul pada m/z 116 diikuti puncak-puncak fragmentasi pada m/z 101, 89, 53, dengan membandingkan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum pada library, yang lebih mendekati adalah senyawa 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl sebanyak 51,30 % dengan spektrum seperti gambar 5 dan struktur senyawa seperti gambar 6. Dalam penelitian sebelumnya telah diidentifikasi senyawa 2-Pentanone, 4 hydroxy-4-methyl dari spons *Petrocia nigricans* sebagai senyawa antibakteri⁵.

**Gambar 5.** Spektra massa pada waktu retensi 3.058**Gambar 6.** Struktur Senyawa 2-Pentanone,4-hydroxy-4-methyl

Senyawa dengan rumus molekul C_8H_{10} berada pada puncak dengan waktu retensi 3.420. Data spektrum menunjukkan puncak ion molekul pada m/z 106 dengan puncak-puncak fragmentasi pada m/z 106, 98, dan 77, dengan membandingkan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum pada library, yang lebih mendekati adalah senyawa Oxylene dengan nama IUPAC Benzene, 1,2-dimethyl sebanyak 2,79 % dengan spektrum pada gambar 7 dan struktur senyawa seperti gambar 8. Identifikasi senyawa O-xylene dari ekstrak metanol kulit batang *Eucalyptus alba* diketahui berpotensi sebagai antijamur⁶.

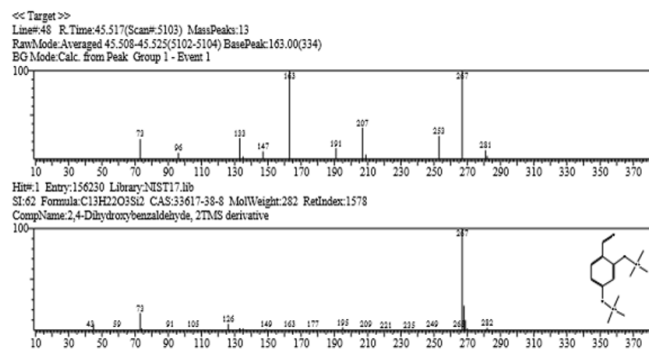


Gambar 7. Spektra massa pada waktu retensi 3.420

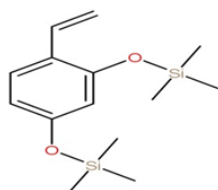


Gambar 8. Struktur Senyawa Oxylene

Senyawa dengan rumus molekul $C_{13}H_{22}O_3Si_2$ berada pada puncak dengan waktu retensi 45.517. Data spektrum menunjukkan puncak ion molekul pada m/z 282 dengan puncak-puncak fragmentasi pada m/z 267, 163, dan 73, dengan membandingkan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum pada library, yang lebih mendekati adalah senyawa dengan nama IUPAC 2,4 dihydroxybenzaldehyde sebanyak 1,22 % dengan spektrum pada gambar 9 dan struktur senyawa seperti gambar 10. Sintesis senyawa 2,4 dihydroxybenzaldehyde berbasis schiif menunjukkan adanya aktivitas antioksidan, antijamur, dan antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, dan *Neisseria gonorrhoeae* ⁷.



Gambar 9. Spektra massa pada waktu retensi 45.517



Gambar 10. Struktur senyawa 2,4 dihydroxybenzaldehyde

4. Kesimpulan

Ekstrak diklorometana isolat bakteri SM4 pada spons *Stylissa massa* asal Perairan Oenggae, Pulau Rote Nusa Tenggara Timur (NTT) yang dianalisis menggunakan GC-MS menghasilkan 3 senyawa dominan yaitu 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl, Oxylene, dan 2,4 dihydroxybenzaldehyde dengan kelimpahan berturut-turut 51,30 %, 2,79% dan 1,22%. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi diklorometana isolat bakteri SM4 terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tergolong sangat kuat. Rerata diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* berturut-turut adalah 12,60 mm dan 11,36 mm.

Daftar Pustaka

- (1) Ruminem, Tandirogang, N., Rahayu, A. P., & Kadir, A. (2020). Modul Penyakit Tropis.
- (2) Fajrina, A., Dinni, D., Bakhtera, A., & Irenda, Y. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Spons *Aplysina Aerophoba* Pada *Helicobacter Pylori* Dan *Shigella Dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Higiea*, 10(2), 134–142.
- (3) Watupongoh, C. C. A., Wewengkang, D. S., & Rotinsulu, H. (2019). Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Organisme Laut Spons *Stylissa Carteri* Yang Dikoleksi Dari Perairan Selat Lembeh Kota Bitung. *Pharmacon*, 8(3), 662–670.
- (4) Pastra, D. A. (2011). Penapisan Bakteri Yang Bersimbiosis Dengan Spons Jenis. *Sriwijaya*.
- (5) Cita, Y. P., Radjasa, O. K., & Sudharmono, P. (2016). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri X2 Yang Berasosiasi Spons *Xestospongia Testudinaria* Dari Pantai Pasir Putih Situbondo Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(2), 206–211.
- (6) Presson, J., Swasono, R. T., Matsjeh, S., Putri, M. P., Az Zahra, Z., & Pardosi, L. (2021). Antimalarial Activity of Sea Sponge Extract of *Stylissa Massa* Originating from Waters of Rote Island. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 24(4), 136–145.
- (7) Liempapas, A., Lolo, W. A., & Yamlean, P. V. Y. (2019). Isolasi Dan Uji Antibakteri Dari Isolat Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons *Callyspongia Aerizusa* Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*, 8(2), 380.
- (8) Rante, H., Alam, G., Usmar, & Wahid, S. N. A. (2020). Isolasi Actinomycetes Dari Sponge Pulau Barrangcaddi Sebagai Penghasil Antimikroba. 24(1), 25–28.
- (9) Sari, W. L. P., Putra, D. P., & Handayani, D. (2017). Senyawa Antibiotik Dari *Bacillus Sp1* (Ha1) Yang Bersimbiosis Pada Spon Laut *Haliclona Fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), 128.
- (10) Murniasih, T., Wibowo, J. T., Putra, M. Y., Untari, F., & Maryani, M. (2018). Pengaruh Nutrisi Dan Suhu Terhadap Selektivitas Potensi Antibakteri Dari Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons. *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(1), 65.
- (11) Pringgenies, D. (2010). Characteristic Bioactive Compound Of The Mollusc Symbiotic Bacteria By Using Gc-Mc. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 2(2), 34–40.
- (12) Van Soest, R. W. M., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., Dohrmann, M., Erpenbeck, D., De Voogd, N. J., Santodomingo, N., Vanhoorne, B., Kelly, M., & Hooper, J. N. A. (2012). Global Diversity of Sponges (Porifera). *Jurnal Review*, 7(4).

- (13) Efendi. (2019). Skrining Aktivitas Antimikroba Bakteri Endosimbion Spons Laut Yang Dikoleksi Dari Pulau Kotok Kecil, Kepulauan Seribu, Dki Jakarta.