

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL DARI EKSTRAK BAKTERI SM10 YANG BERSIMBIOSIS DENGAN SPONS *Stylissa massa*

Angelina Fransis Mokos¹, Jefry Presson^{1*}, Sefrinus Maria Dolfi Kolo¹, Lukas Pardosi²

Received:

13 October 2022

Accepted:

10 November 2022

Published:

15 March 2023

DOI:

<https://10.32938/jcsa.v1i1.3430>

¹Program Studi Kimia, Fakultas Pertanian, Universitas Timor, Kefamenanu, Indonesia.

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

*Email: pressontimor@gmail.com

Abstrak

Penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri pathogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri patogen ini telah resisten terhadap penggunaan antibiotik sehingga menjadi masalah dalam dunia kesehatan. Eksplorasi dan pengembangan sumber antibiotik baru sangat diperlukan, salah satunya yang berasal dari spons laut. Contoh spons diperoleh dari Perairan Oenggae, Pulau Rote. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol pada bakteri simbiosis spons *Stylissa massa* dan juga untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan untuk isolasi spons adalah metode pengenceran berseri, fraksinasi menggunakan pelarut diklorometana dan metanol, sedangkan metode untuk uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dan identifikasi senyawa menggunakan GC-MS. Penelitian ini menggunakan isolat bakteri SM10 ekstrak metanol dan menunjukkan adanya kemampuan antagonis terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Analisis GC-MS menghasilkan 50 puncak senyawa dengan 3 senyawa dominan yaitu Eucalyptol 55,92 %, Cyclohexene, 1methyl-4 (1 methylethenyl)-(s) 2,35 %, L-alpha-Terpineol 1,71 %. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol isolat bakteri SM10 terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tergolong sangat kuat, dengan diameter zona hambat berturut-turut adalah 13,46 dan 11,30 mm.

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

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang perlu mendapatkan perhatian secara khusus karena perkembangannya yang terus meningkat terutama di wilayah Indonesia¹. Pada tiap tahunnya dilaporkan kurang lebih sembilan juta orang meninggal akibat penyakit infeksi, diantaranya anak-anak yang masih berusia di bawah lima tahun mengalami infeksi sehingga mengakibatkan cacat seumur hidup². Bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* dan *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap antibiotik-antibiotik yang ditemukan sehingga menjadi masalah besar bagi dunia kesehatan³. Oleh sebab itu diperlukan alternatif penemuan antibiotik baru dengan harapan untuk mengatasi permasalahan tersebut, salah satunya adalah bahan alam laut.

Thakur dan Muller⁴, sejauh ini telah menemukan lebih dari 10.000 senyawa bioaktif dari sumber laut, dengan ratusan

senyawa baru tiap tahunnya. Organisme laut mempunyai potensi yang cukup besar, untuk menghasilkan senyawa-senyawa aktif dimana senyawa tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan. Beberapa organisme laut yang diketahui berpotensi menghasilkan senyawa aktif diantaranya yaitu spons, moluska, bryozoa, tunikata dan lain-lain. Organisme-organisme laut ini diketahui dapat menghasilkan produk laut yang bersifat alami dalam jumlah yang cukup besar, dan mampu menunjukkan keragaman senyawa kimia yang sangat besar⁵.

Spons adalah salah satu biota laut yang sangat mungkin sebagai sumber senyawa bahan-bahan alami diantaranya yaitu peptida, terpenoid, steroid, asetogenin, alkaloid, halide siklik dan senyawa nitrogen. Senyawa-senyawa ini mempunyai aktivitas farmakologis seperti antifouling, antitumor, anti-inflamasi, antivirus, antibakteri, dan antimalaria⁶. Spons menjadi suatu fokus yang sangat menarik akhir-akhir ini akibat dua faktor utama yaitu spons dapat

membentuk asosiasi dengan berbagai mikroba dan spons merupakan sumber bioaktif metabolit sekunder yang kaya dan cukup besar. Oleh sebabnya, pemanfaatan mikroorganisme yang bersimbiosis dengan spons akan lebih baik dan lebih aman karena bakteri penghasil metabolit sekunder ini bersifat bioaktif dan lebih mudah dikulturkan dalam skala laboratorium sehingga dapat diperbanyak dalam waktu yang relatif singkat³.

Penelitian terhadap Spons *stylissa massa* asal perairan Oenggae-Rote telah dilakukan oleh Presson⁷, menghasilkan fraksi 8, 11,12 dan 14 berpotensi sebagai agen antimalarial dengan nilai LC50 berturut-turut 82, 93, 105 dan 96 µg/mL. Fraksi 14 mengandung senyawa *ectyoplaside B*, *hymenamide C*, dan *hymenamide H*. Ekstrak methanol dari spons *Agelas clathrodes* dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang bersifat bakterisida terhadap *Escherichia coli*, *Mycobacterium smegmatis* dan bersifat bakteriostatik terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode dilusi. Senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri pada *A. clathrodes* adalah Agelasidine⁸.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol isolat spons *Stylissa massa* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2. Metodologi

2.1 Bahan

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

2.2 Alat

Oven, Mortar dan Alu, pingset, gelas-gelas kimia, pipet mikro, jarum ose, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, rak dan tabung reaksi, batang pengaduk, timbangan analitik, incubator, *hot plate*, autoklaf, jangka sorong, corong pisah dan alat analisis Kromatografi Gas Spektroskopi Massa (GC-MS).

2.3 Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Spons *Stylissa massa* diambil dari Perairan Oenggae, Pulau Rote – Nusa Tenggara Timur.

Preparasi Sampel

Sampel dibersihkan dari materi asing dan organisme lain dan disimpan di dalam *coolbox* agar sampel tetap segar dan tidak rusak. Sampel spons diambil kemudian dicuci menggunakan

aquades kemudian dipotong seperti dadu, dan dihaluskan menggunakan lumpang.

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran berseri. Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan ke dalam 9 mL air laut steril, sehingga didapatkan pengenceran 10¹, sampel digojog/divortex hingga homogen. Sebanyak 1 mL hasil pengenceran 10¹ dipindahkan ke dalam 9 mL air laut steril sehingga didapatkan pengenceran 10², sampel digojog/divortex hingga homogen. Masing-masing hasil pengenceran diambil 35 µL kemudian ditanam ke permukaan media nutrisi agar dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 2x24 jam⁹

Uji Antagonis Bakteri Symbion Terhadap Bakteri Patogen

Dibuat suspensi bakteri symbion dengan mengambil isolat bakteri menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades, kemudian digocok sampai keruh. Selanjutnya goreskan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ke dalam cawan petri yang berisi media MHA, rendam kertas cakram dalam hasil suspensi dan letakkan kertas cakram ke setiap sisi cawan petri, setelah itu diinkubasi selama 24 jam¹⁰.

Kultur Bakteri dan Ekstrak Metanol Metabolit Sekunder SM10

Isolat bakteri terpilih SM10 ditumbuhkan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian diambil 1 lup ose isolat SM10 dan dikulturkan ke media cair NB, selanjutnya di sheker selama 72 jam.

Fraksinasi Ekstrak Bakteri

Ekstrak difraksinasi dengan teknik partisi cair-cair. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan komponen Senyawa metabolit sekunder dari ekstrak yang telah dihasilkan. Ekstrak bakteri difraksinasi menggunakan pelarut metanol dan pemisahan menggunakan corong pisah. Ekstrak tersebut kemudian diuapkan menggunakan *hot plate* hingga memperoleh ekstrak kental, kemudian ditimbang dan identifikasi golongan senyawa bioaktif menggunakan instrumen GC-MS serta diuji Aktivitas Antibakteri¹¹.

Uji Aktivitas Antibakteri

Sebanyak 15 mL nutrisi agar (NA) dimasukkan ke dalam cawan petri steril, media dibiarkan memadat, kemudian digoreskan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada permukaan media. Kertas cakram steril direndam pada larutan uji ekstrak metanol kemudian ditempelkan ke

permukaan agar. Sebagai kontrol negatif digunakan Metanol dan kontrol positif digunakan cakram kloramfenikol. Perlakuan ini diulang sebanyak 3 kali. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37° C. Aktivitas antibakteri ditetapkan dengan mengukur diameter daerah hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong¹².

Analisis GC-MS

Ekstrak bakteri SM10 fraksi dilkorometana 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 NIST (Pringgenies, 2010).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik Spons

Spons diambil dari Perairan Oenggae, Pulau Rote Nusa Tenggara Timur (NTT) pada kedalaman 2-10 meter. Sampel spons diambil secukupnya dan dimasukkan kedalam kantong plastic yang telah diisi air laut dan dimasukkan kedalam *cool box*.

Sampel spons yang diperoleh dari Perairan Oenggae, Pulau Rote merupakan spons *Stylissa massa* (**Gambar 1**). Dalam¹³ dijelaskan bahwa spons *Stylissa massa* merupakan spons yang berwarna kuning dengan ukuran panjangnya 5-10 cm dan diameter 5-8 cm. Hal ini sependapat dengan Soest¹⁴, dimana spons *Stylissa massa* merupakan spons yang memiliki warna kuning muda sampai dengan oranye, dengan ukuran panjang 7-20 cm, dan diameter 5-11 cm.



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

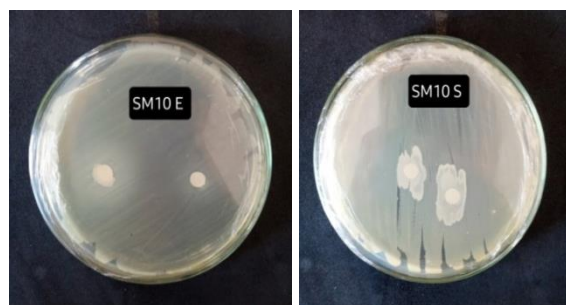
3.2 Uji Antagonis Bakteri Symbion Terhadap bakteri Patogen (Uji Antimikrob)

Hasil skrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri SM10 terhadap bakteri patogen ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram, yang membuktikan bahwa isolat bakteri symbion SM10 memiliki potensi dalam menghasilkan suatu senyawa bioaktif sebagai agen antibakteri (**Tabel 1**).

Tabel 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Isolat SM10 Hasil Isolasi dari Spons *Stylissa massa*

Kode Isolat	Zona Hambat	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SM10	++	++

Keterangan: ++: Zona bening luas, dan - : Tidak ada zona bening



Gambar 2. Hasil Pengujian Antagonis Isolat Bakteri SM10

Berdasarkan **Tabel 1**, supernatan bakteri symbion spons *Stylissa massa* menunjukkan potensi antibakteri terhadap bakteri uji. Isolat bakteri symbion yang memiliki kemampuan paling besar ditunjukkan oleh bakteri symbion SM10, dengan nilai zona hambat rata-rata terhadap bakteri uji gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Escherichia coli*) sebesar 9,93 mm dan 8,90 mm. Berdasarkan zona hambat tersebut, maka isolat SM10 dipilih sebagai isolat yang paling potensial terhadap bakteri uji.

Adanya zona bening di sekitar cakram mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri dari bakteri symbion yang berasosiasi dengan spons *Stylissa massa*. Kemampuan isolat bakteri SM10 asal spons *Stylissa massa* dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji, merupakan bentuk aktivitas antagonis yang dilakukan dengan menghasilkan kandungan senyawa yang bersifat antimikroba. Penelitian yang telah dilakukan oleh Nofiani¹⁵, telah menunjukkan kemampuan

bakteri simbiosis pada spons yang mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. dan *Bacillus subtilis*

3.3 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Simbiosis

Bakteri simbiosis merupakan jenis bakteri yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Metabolit sekunder dapat diperoleh dengan cara mengisolasi bakteri simbiosis tersebut. Isolasi bertujuan dalam memperoleh isolat murni bakteri simbiosis pada sampel spons laut¹⁶. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh isolat dengan kode SM10 dari spons *Stylissa massa*.



Gambar 3. Isolat Bakteri SM10 (Dokumentasi pribadi)

Jenis bakteri simbiosis SM10 yang diperoleh dari spons *Stylissa massa* diisolasi berdasarkan morfologi, ukuran, warna dan bentuk koloni (tabel 2). Dasar isolasi tersebut kemungkinan terdapat perbedaan aktivitas dari masing-masing isolat yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya. Berikut adalah hasil isolasi dan pemurnian bakteri simbiosis.

Tabel 2. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri SM10 yang Diisolasi pada Spons *Stylissa massa*.

Kode Isolat	Warna	Bentuk Koloni	Elevasi	Ukuran	Tepi Koloni
SM10	Kuning	Tidak beraturan	Datar	Kecil	Bergelombang

Lee¹⁷, menjelaskan bahwa organisme laut yang bersimbiosis dengan spons diantaranya dari kelompok Carkarea, bakteri heterotrofik, sianobakteria, alga hijau, alga merah, kriptofita, dinoflagellata. Pada beberapa organisme tersebut, kelompok yang paling mendominasi adalah kelompok bakteri dengan persentase sebesar 40% dari biomassa spons atau 60% dari volume jaringan spons.

Pahriyani dan Wardani¹⁶, menyatakan bahwa isolat bakteri simbiosis yang berasosiasi dengan spons memiliki karakteristik morfologi yang memperlihatkan warna koloni yang dihasilkan yaitu orange, kuning, dan putih dengan bentuk bundar dengan inti ditengah. Tepian isolat berbentuk licin,

tidak beraturan, dan berlekuk dengan elevasi cembung, elevasi seperti tetesan, timbul, dan berbukit-bukit.

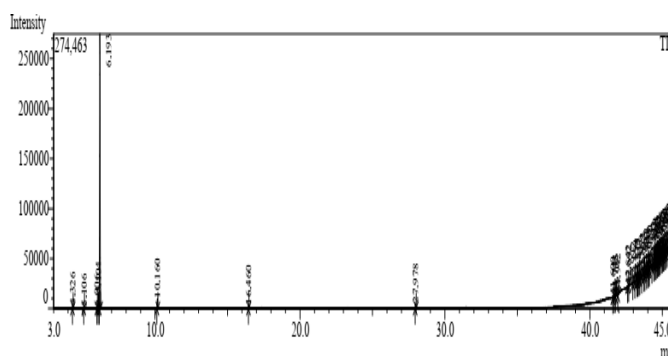
3.4 Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Isolat Bakteri SM10

Senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri, dapat diekstraksi secara cair-cair. Sebelum dilakukan ekstraksi senyawa metabolit sekunder, maka terlebih dahulu dilakukan pemisahan ekstrak bakteri SM10 dengan menggunakan media cair Nutrient Broth (NB) dan dishaker selama 3 hari, setelah itu dilakukan pemisahan cair-cair menggunakan pelarut organik secara berturut-turut dengan polaritas yang berbeda yaitu diklorometan (semipolar) dan metanol (polar), pemisahan dilakukan menggunakan corong pisah. Menurut Dash¹⁸, perbedaan polaritas pada pelarut organik yang digunakan dalam pemisahan dapat memudahkan isolasi senyawa metabolit sekunder dan identifikasi pada tahap berikutnya.

Hasil ekstraksi metabolit sekunder yang diperoleh adalah ekstrak metanol isolat bakteri SM10 yang kemudian diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kental dengan menggunakan hot plate dengan mengontrol suhunya. Hasil fraksinasi yang diuapkan menghasilkan ekstrak kental dengan beratnya sebesar 28,55 gram. Dalam Gultom¹⁹, dijelaskan bahwa metabolit sekunder yang diproduksi oleh bakteri simbiosis berpotensi sebagai prekursor biosintesis metabolit spons.

3.5 Analisis Senyawa Bioaktif Antibakteri Menggunakan Gc-MS

Analisis senyawa bioaktif antibakteri ekstrak metanol SM10 pada spons *Stylissa massa* menggunakan instrumen GC-MS menunjukkan ditunjukkan pada gambar berikut (Gambar 4).

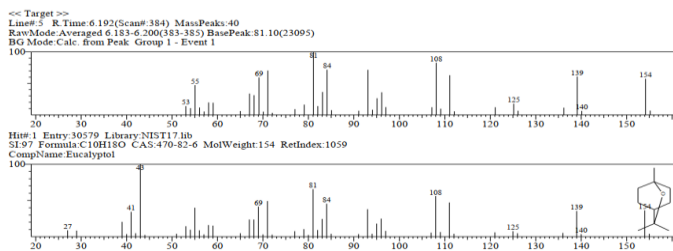


Gambar 4. Kromatogram ekstrak metanol spons *Stylissa massa*.

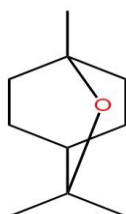
Berdasarkan gambar kromatogram GC-MS diatas, maka dapat diketahui bahwa ada 50 puncak yang mengindikasikan adanya 50 senyawa yang terkandung dalam isolate tersebut.

Dari 50 puncak yang dihasilkan, hanya 3 puncak (puncak 4, 5, 6) yang dapat dianalisis berdasarkan *database* MS. Sedangkan 47 puncak lainnya belum dapat dianalisis karena belum sesuai dengan *database library* MS sehingga diperlukan beberapa spektra tambahan seperti H-NMR dan C-NMR. Analisis puncak yang memiliki kecocokan dengan *database* NIST17.lib.

Senyawa yang memiliki kelimpahan paling besar adalah senyawa dengan puncak waktu retensi 6.192 menit merupakan senyawa dengan rumus molekul $C_{10}H_{18}O$. Data spektrum menunjukkan puncak ion molekul pada m/e 154 diikuti puncak-puncak fragmentasi pada m/e 139, 125, 108, 84, 81, 69 dan 48. Dengan membandingkan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum pada *library*, yang lebih mendekati adalah senyawa Eucalyptol sebanyak 55,92 % dengan spektrum seperti **Gambar 5**. Senyawa Eucalyptol kebanyakan terkandung pada minyak atsiri dan mempunyai sifat sebagai antibakteri dan juga dikenal sebagai bioaktivitas yang banyak dimanfaatkan sebagai antikejang²⁰.



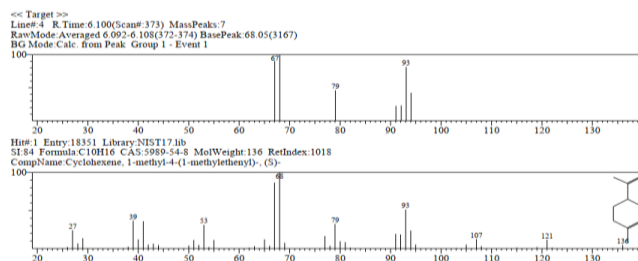
Gambar 5. Spektra massa pada waktu retensi 6.192



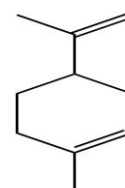
Gambar 6. Struktur Senyawa Eucalyptol

Puncak dengan waktu retensi 6.100 menit merupakan senyawa dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$. Data spektrum menunjukkan puncak ion molekul pada m/e 136 diikuti puncak-puncak fragmentasi pada m/e 93, 79, dan 67. Dengan membandingkan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum pada *library*, yang lebih mendekati adalah senyawa 1-Limonene dengan nama IUPAC Cyclohexene,1 methyl-4-(1-methylethenyl) sebanyak 2,35 % dengan spektrum seperti **Gambar 7**. Senyawa 1-Limonene pernah diisolasi dari spons family *domuncula suberites* oleh

Surahmaida, senyawa ini mempunyai aktivitas sebagai antibakteri²¹.

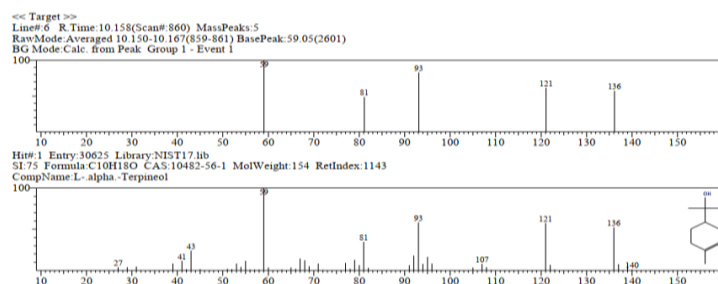


Gambar 7. Spektra massa pada waktu retensi 6.100

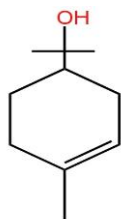


Gambar 8. Struktur Senyawa 1-Limonene

Puncak dengan waktu retensi 10.158 menit merupakan senyawa dengan rumus molekul $C_{10}H_{18}O$. Data spektrum menunjukkan puncak ion molekul pada m/e 154 diikuti puncak-puncak fragmentasi pada m/e 136, 121, 93, 81, dan 59. Dengan membandingkan data spektrum yang diperoleh dengan data spektrum pada *library*, yang lebih mendekati adalah senyawa L-alpha-Terpineol sebanyak 1,71 % dengan spektrum seperti **Gambar 9**. Senyawa L-alpha-Terpineol ini pernah diisolasi dari spons family *domuncula suberites* oleh Wibowo, senyawa ini mempunyai aktivitas sebagai antibakteri juga dapat dimanfaatkan sebagai insektisida, dan antioksidan²².



Gambar 9. Spektra massa pada waktu retensi 10.158



Gambar 10. Struktur Senyawa Alpha-Terpineol

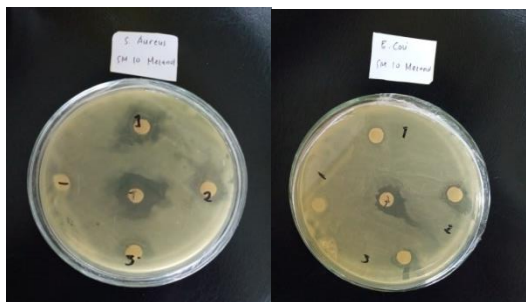
3.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Isolat Bakteri SM10

Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol SM10 spons *Stylissa massa* menggunakan metode difusi cakram, memiliki kekuatan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol terhadap bakteri uji ditunjukkan pada **Table 3**.

Tabel 3. Pengukuran diameter zona hambat sampel terhadap bakteri uji.

Ulangan	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	9,22	14,00
2	11,26	13,80
3	10,10	12,58
Rata-rata	10,19	13,46
Kontrol positif	11,30	14,20
Kontrol negatif	-	-

Berdasarkan data pada **Tabel 4** diatas, menunjukkan bahwa ekstrak senyawa bioaktif yang dihasilkan dari isolat bakteri SM10 dengan menggunakan pelarut metanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol menunjukkan adanya kemampuan daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara berturut-turut adalah 13,46 dan 11,30.



Gambar 11. Uji aktivitas antibakteri fraksi metanol ekstrak SM10 terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan ditandai dengan adanya zona bening disekitar cakram pada bakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli*, sehingga menunjukkan bahwa adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak metanol. Zona hambat tersebut dapat diklasifikasikan sebagai zona hambat kuat, dikarenakan dalam David dan Stout²³, kekuatan antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dikelompokkan menjadi 3 yaitu sangat kuat, sedang dan lemah. Aktivitas antibakteri dikatakan sangat kuat jika diameter zona hambat yang dihasilkan 10-20 mm, untuk kategori sedang diameter zona hambat yang dihasilkan 5-10 mm, sedangkan untuk kategori lemah diameter zona hambat yang dihasilkan adalah 0-5 mm.

Dari isolat SM10, terlihat bahwa isolat bakteri lebih berpotensi menghambat bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dibandingkan terhadap gram negatif (*Escherichia coli*). Menurut Gultom²⁴, bakteri Gram positif merupakan bakteri yang lebih rentan terhadap senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Hal ini disebabkan oleh bakteri gram positif tidak memiliki membran luar seperti bakteri gram negatif. Selain itu gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang merupakan senyawa campuran gula dan polipeptida yang cenderung dapat dihambat pembentukannya oleh senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Berdasarkan rerata **Tabel 4** ekstrak metanol isolat bakteri SM10 pada spons *Stylissa massa* menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hal ini karena ekstrak tersebut mengandung senyawa kimia yang berpotensi sebagai agen antibakteri seperti Eucalyptol, 1-Limonene dan L-Alpha-Terpineol.

Dalam pengujian ini digunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol yang merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap mikroorganisme aerobik dan anaerobik, kontrol positif juga digunakan untuk membandingkan diameter zona hambat yang terbentuk²⁴. Diameter zona hambat kontrol positif dari kedua bakteri uji lebih besar dibandingkan dengan ekstrak dan kontrol negatif. Diameter zona hambat dari bakteri *Escherichia coli* yaitu sebesar 11,30 mm dan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 14,20 mm. Kontrol negatif dalam penelitian ini menggunakan pelarut metanol. Kontrol negatif berfungsi untuk memperlihatkan apakah metanol berpengaruh pada ekstrak atau tidak. Pada penelitian ini kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat pada skrining antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*. Ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif tidak berpengaruh

pada skrining antibakteri melainkan senyawa pada ekstrak spons *Stylissa massa* ini mengandung senyawa metabolit sekunder sebagai antibakteri²⁵.

Referensi

- (1) Aristyawan, A. D.; Sugijanto, N. E.; Suciati. Potensi Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Spons Agelas Cavernosa. *J. Farm. Dan Ilmu Kefarmasian Indones.* **2017**, *4* (1), 39–43.
- (2) World Health Organization. (WHO). Antimicrobial Resistance. 2018.
- (3) Cita, Y. P.; Radjasa, O. K.; Sudharmono, P. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri X2 Yang Berasosiasi Spons Xestospongia Testudinaria Dari Pantai Pasir Putih Situbondo Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. *J. Ilmu Kefarmasian Indones.* **2016**, *14* (2), 206–211.
- (4) Thakur, N. L.; Müller, W. E. G. Biotechnological Potential of Marine Sponges. **2004**, *86* (11).
- (5) Dwijendra, I. M.; Wewengkang, D. S.; Wehantou, F. AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FRAKSI SPONS Lamellodysidea Herbacea YANG DIPEROLEH DARI TELUK MANADO. *PHARMACONJurnal Ilm. Farm.* **2014**, Vol. 3 No.
- (6) Pasodung, A. P.; Losung, F.; Angkouw, E. D.; Lintang, R.; Mantiri, D. M. H.; Sumilat, D. A. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SPONS Plakortis Sp . YANG DIKOLEKSI DARI PERAIRAN BUNAKEN. *J. Pesisir Dan Laut Trop.* **2018**, *1* (1), 44–51.
- (7) Presson, J.; Swasono, R. T.; Matsjeh, S.; Putri, M. P.; Az Zahra, Z.; Pardosi, L. Antimalarial Activity of Sea Sponge Extract of *Stylissa Massa* Originating from Waters of Rote Island. *J. Kim. Sains Dan Apl.* **2021**, *24* (4), 136–145. <https://doi.org/10.14710/jksa.24.4.136-145>.
- (8) Medeiros, M. A.; Lourenc_o, A.; Tavares, M. R.; Curto, M. J. M.; Feio, S. nia S.; Roseiroc, and J. C.; A. (ð) - Agelasidine A from *Agelas Clathrodes*. *ETJ.* **2006**, 1–5.
- (9) Samirudin; Anwarrudin, S.; Layn, A. A.; Yanti, N. A. SCREENING BAKTERI YANG BERSIMBIOSIS DENGAN SPONS JENIS *Petrosia* Sp. SEBAGAI PENGHASIL ANTIBAKTERI DARI PERAIRAN TAMAN NASIONAL WAKATOBI. **2018**, *5* (C), 708–715.
- (10) Setyati, W. A.; Habibi, A. S.; Ridlo, A.; Nirwani, S.; Pramesti, R.; Kelautan, D. I.; Perikanan, F.; Diponegoro, U. Skrining Dan Seleksi Bakteri Symbion Spons Penghasil Enzim Ekstraseluler Sebagai Agen Bioremediasi Bahan Organik Dan Biokontrol Vibriosis Pada Budidaya Udang. *J. Kelaut. Trop.* **2016**, *19* (1), 11–20.
- (11) Nuria, M. C.; Chabibah, Z.; Banu, S.; Fithria, R. F. EKSTRAK METANOL DAUN GUGUR KETAPANG (*Terminalia Catappa* L .) SEBAGAI ANTIDIARE. **2017**, 163–173.
- (12) Fajrina, A.; Dinni, D.; Bakhtra, A.; Irenda, Y. Uji Aktivitas Antibakteri Ektrak Etil Asetat Spons *Aplysina Aerophoba* Pada *Helicobacter Pylori* Dan *Shigella Dysenteriae*. *J. Farm. Higea* **2018**, *10* (2).
- (13) Effendi, A. N. Skrining Aktivitas Antimikroba Bakteri Endosimbion Spons Laut Yang Dikoleksi Dari Pulau Kotok Kecil, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta, 2019.
- (14) Soest, R. W. M. Van; Boury-esnault, N.; Vacelet, J.; Dohrmann, M.; Erpenbeck, D.; Voogd, N. J. De; Santodomingo, N.; Vanhoorne, B.; Kelly, M.; Hooper, J. N. A. Global Diversity of Sponges (Porifera). *J. Rev.* **2012**, 7 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035105>.
- (15) Nofiani, R.; Nurbetty, S.; Sapar, A. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons Dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat. *E-J. Ilmu Dan Teknol. Kelaut. Trop.* **2009**, *1* (2), 33–44.
- (16) Pahriyani, A.; Wardani, E. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Symbion Dari Spons Laut Yang Berpotensi Sebagai Antimikroba, 2020.
- (17) Marzuki, I. EKSPLORASI SPONS INDONESIA : SEPUTAR KEPULAUAN SPERMONDE. In *Kekayaan Alam Hayati Laut*; 2018.
- (18) Dash, S.; Jin, C.; Lee, O. O.; Xu, Y.; Qian, P. Y. Antibacterial and Antilarval-Settlement Potential and Metabolite Profiles of Novel Sponge-Associated Marine Bacteria. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2009**, *36* (8), 1047–1056. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0588-x>.
- (19) Gultom, E. S. AKTIFITAS EKSTRAK BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN SPONS *Haliclona* Sp2. Dan *Axinellid* Sp. SEBAGAI ANTIBAKTERI, 2014.
- (20) Ali, L. F.; Hussein, N. S. M. The Biological Activity of *Eucalyptus Rostrata* Leaves Extraction against *E.Coli* and *Staphylococcus Aureus* Isolated from Iraqi Patients. *Iraqi J. Sci.* **2018**, *59* (4), 1806–1810. <https://doi.org/10.24996/IJS.2018.59.4A.5>.
- (21) Surahmida; Umarudin; Rani, A. W.; Dewi1, N. C. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas*) Dengan GCMS Phytochemical Screening of Secondary Metabolite Compounds Methanol Extract of *Jatropha*

- Curcas Leaf with GCMS. *J. Pharm. Sci.* **2021**, *6* (1), 25–30.
- (22) Wibowo, S.; Komarayati, S. SIFAT FISIKA KIMIA MINYAK CUPRESUS (*Cupressus Bentharii*) ASAL AEK NAULI, PARAPAT SUMATERA UTARA. *J. Penelit. Has. Hutan* **2015**, *33* (2), 93–103. <https://doi.org/10.20886/jpjh.v33i2.817.93-103>.
- (23) Winastri, N. L. A. P.; Muliastari, H.; Hidayati, E. Aktivitas Antibakteri Air Perasan Dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis Corniculata* L.) Terhadap *Streptococcus Mutans*. *J. Ilmu-Ilmu Hayati P-ISSN* **2020**, *19* (2), 223–230.
- (24) Mengko, K. R.; Wewengkang, D. S.; Rumondor, E. M. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *Theonella Swinhoei* EXTRACTS AGAINST THE GROWTH OF *Escherichia Coli* AND *Staphylococcus Aureus* BACTERIA Uji AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL SPONS *Theonella Swinhoei* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia Coli* DAN *Staphylococcus Aureus*. *PHARMACONJurnal Ilm. Farm.* **2022**, *11* (1), 1231–1236.
- (25) Rompis, A. A. O.; Losung, F.; Sumilat, D. A.; Windarto, A. B.; Wullur, S.; Lalamentik, L. T. X. AKTIVITAS ANTIBAKTERI BEBERAPA SPONS DARI PERAIRAN TASIK RIA TERHADAP BAKTERI *Escherichia Coli* DAN *Staphylococcus Aureus*. *J. Ilm. Platax* **2019**, *7* (1), 1–8.