

**UJI EKSTRAK SPONS *Agelas cervicornis* DAN BAKTERI
ASOSIASINYA DARI PERAIRAN SITUBONDO TERHADAP
BAKTERI PATOGEN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun Oleh :

ARDELIA HUMAIMAH DENATRI

NIM. H94218037

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA**

2022

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Ardelia Humaimah Denatri

NIM : H94218037

Program Studi : Ilmu Kelautan

Angkatan : 2018

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul : **“UJI EKSTRAK SPONS *Agelas cervicornis* DAN BAKTERI ASOSIASINYA DARI PERAIRAN SITUBONDO TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Staphylococcus aureus*”**. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 20 Maret 2022

Yang menyatakan,



(Ardelia Humaimah Denatri)

H94218037

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : ARDELIA HUMAIMAH DENATRI

NIM : H94218037

JUDUL : UJI EKSTRAK SPONS *Agelas cervicornis* DAN
BAKTERI ASOSIASINYA DARI PERAIRAN SITUBONDO
TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Staphylococcus aureus*

Ini telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 8 April 2022

Dosen Pembimbing 1



(Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes)
NIP.1981072252014031002

Dosen Pembimbing 2



(Dian Sari Marsaroh, M.Si)
NIP.198908242018012001

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Ardelia Humaimah Denatri ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 13 April 2022

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



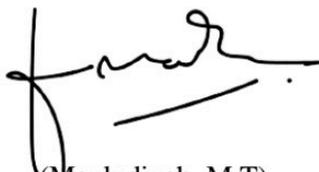
(Misbakhul Munir, S.Si., M.Kes)
NIP.1981072252014031002

Penguji II



(Dian Sari Maisaroh, M.Si)
NIP.198908242018012001

Penguji III



(Mauludiyah, M.T)
NUP.201409003

Penguji IV



(Muhammad Yunan Fahmi, S.T., M.T)
NUP.201409004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya



(Fahmatur Rusydiyah, M.Ag)
NIP.12272005012003



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Ardelia Humaimah Denatri
NIM : H94218037
Fakultas / Jurusan : Sains dan Teknologi / Ilmu Kelautan
E-mail address : ardeliadenatri12@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Sekripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Uji Ekstrak Spons *Agelas cervicornis* dan Bakteri Asosiasinya dari Perairan Situbondo

Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus*

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 15 April 2022

Penulis

(Ardelia Humaimah Denatri)

ABSTRAK

UJI EKSTRAK SPONS *Agelas cervicornis* DAN BAKTERI ASOSIASINYA DARI PERAIRAN SITUBONDO TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Staphylococcus aureus*

Infeksi merupakan masalah kesehatan penyebab kematian terbesar di dunia. Penanggulangan terhadap infeksi diantaranya dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik. Namun pemberian antibiotik terus menerus dapat mengakibatkan resistensi pada mikroba penyebab penyakit. Salah satu bakteri penyebab infeksi kulit dan dilaporkan telah resisten terhadap beberapa antibakteri adalah *Staphylococcus aureus*. Adanya resistensi tersebut maka diperlukan suatu usaha alternatif dengan cara mengeksplorasi pemanfaatan bahan alam yang mengandung senyawa bioaktif khususnya bahan yang berasal dari wilayah lautan. Salah satunya adalah ekstrak spons yang berasal dari genus *Agelas* beserta bakteri asosiasinya dilaporkan mengandung metabolit sekunder sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak spons, kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak spons dan uji antagonis dari simbiosis spons *Agelas cervicornis* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pengujian pada penelitian ini meliputi skrining fitokimia secara kualitatif, uji antibakteri dan uji antagonis metode difusi cakram untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak spons *Agelas cervicornis* mengandung flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Hasil uji potensi antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan seluruh konsentrasi 0,5 mg/ml, 1 mg/ml maupun 1,5 mg/ml memiliki daya hambat lemah. Sedangkan hasil uji antagonis dari simbiosis spons *Agelas cervicornis* terdapat enam isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri sedangkan dua isolat lainnya tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

Kata kunci: Spons, *Agelas cervicornis*, Bakteri Asosiasi, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

TEST OF SPONGE EXTRACT *Agelas cervicornis* AND ASSOCIATED BACTERIA FROM SITUBONDO REGENCY ON PATHOGENIC BACTERIA *Staphylococcus aureus*

Infection is a health problem that can cause death in the world. Antibiotics are the treatment used to treat an infectious disease. If antibiotics used continuously, it can cause a resistance. One of the bacteria that causes skin infections and have been reported to resistant several antibacterial is Staphylococcus aureus. So we need an alternatices to explore antibacterial compounds derived from the ocean. Sponge extract and associated bacteria from genus Agelas have been reported to contain secondary metabolite as antibacterial. This research have purpose to antibacterial potential of sponge extract, secondary metabolit of sponge extract and antagonist test of associated bacteria sponge Agelas cervicornis on pathogenic bacteria Staphylococcus aureus. The extraction process uses maceration with methanol as a solvent. The test carried out in this study included phytochemical screening test, antibacterial activity test and antagonist test carried out using the disc diffusion method to determine the inhibition zone produced against the pathogenic bacteria Staphylococcus aureus. The results of phytochemical screening showed that the sponge extract of Agelas cervicornis contained flavonoids, alkaloids and terpenoids. The results of the antibacterial potential test of the sponge extract of Agelas cervicornis showed that all concentrations of 0,5 mg/ml, 1 mg/ml and 1,5 mg/ml had weak inhibitory properties. While the results of the antagonist test of the sponge symbiont Agelas cervicornis there were six isolates that show antibacterial activity and two isolates that did not show antibacterial activity.

Keywords: Sponge, *Agelas cervicornis*, Associated Bacteria, *Staphylococcus aureus*

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
1.6 Batasan Masalah	5
BAB II.....	6
TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Spons <i>Agelas cervicornis</i>	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Morfologi	6
2.2 Ekstraksi.....	7
2.2.1 Cara Dingin.....	7
2.2.2 Cara Panas.....	8
2.3 Pemilihan Pelarut	9
2.3.1 Air	9
2.3.2 Metanol	9
2.3.3 Etanol	9
2.3.4 Aseton	9
2.3.5 Etil asetat.....	10
2.3.6 n-Heksana	10
2.4 Metabolit Sekunder	10
2.4.1 Flavonoid	10
2.4.2 Alkaloid.....	11
2.4.3 Terpenoid / Steroid.....	11
2.4.4 Saponin	11
2.4.5 Polifenol.....	11
2.5 Bakteri.....	12
2.5.1 Definisi Bakteri	12
2.5.2 Morfologi Bakteri	13
2.5.3 Faktor Pertumbuhan Bakteri	14

2.5.4	Fase Pertumbuhan Bakteri	17
2.5.5	Bakteri Asosiasi	18
2.6	<i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.6.1	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.6.2	Morfologi	19
2.6.3	Karakteristik	19
2.7	Antibakteri	20
2.7.1	Definisi Antibakteri	20
2.7.2	Mekanisme Kerja	21
2.7.3	Metode Pengujian Antibakteri	21
2.8	Integrasi Keislaman	22
2.9	Penelitian Terdahulu	24
BAB III		28
METODOLOGI PENELITIAN		28
3.1	Waktu dan Lokasi Penelitian	28
3.2	Alat dan Bahan Penelitian	29
3.3	Variabel Penelitian	31
3.4	Tahap Penelitian	32
3.5	Metode Pengumpulan Data	33
3.5.1	Tahap Persiapan	33
3.5.2	Tahap Pelaksanaan di Lapangan	34
3.5.3	Tahap Pelaksanaan di Laboratorium	36
3.6	Analisis Data	41
BAB IV		42
HASIL DAN PEMBAHASAN		42
4.1	Hasil Identifikasi Sampel Spons <i>Agelas cervicornis</i>	42
4.2	Hasil Ekstraksi Spons <i>Agelas cervicornis</i>	44
4.3	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Spons <i>Agelas cervicornis</i>	45
4.4	Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Spons <i>Agelas cervicornis</i>	49
4.5	Hasil Uji Statistika Efektifitas Konsentrasi Ekstrak Spons <i>Agelas cervicornis</i>	52
4.5.1	Uji Normalitas	52
4.5.2	Uji One Way Anova	53
4.6	Hasil Karakterisasi Bakteri Asosiasi Spons <i>Agelas cervicornis</i>	53
4.6.1	Karakterisasi Makroskopis	53
4.6.2	Karakterisasi Mikroskopis	55
4.7	Hasil Uji Antagonis Bakteri Asosiasi Spons <i>Agelas cervicornis</i>	57

BAB V	60
PENUTUP	60
5.1 Kesimpulan	60
5.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN.....	74



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

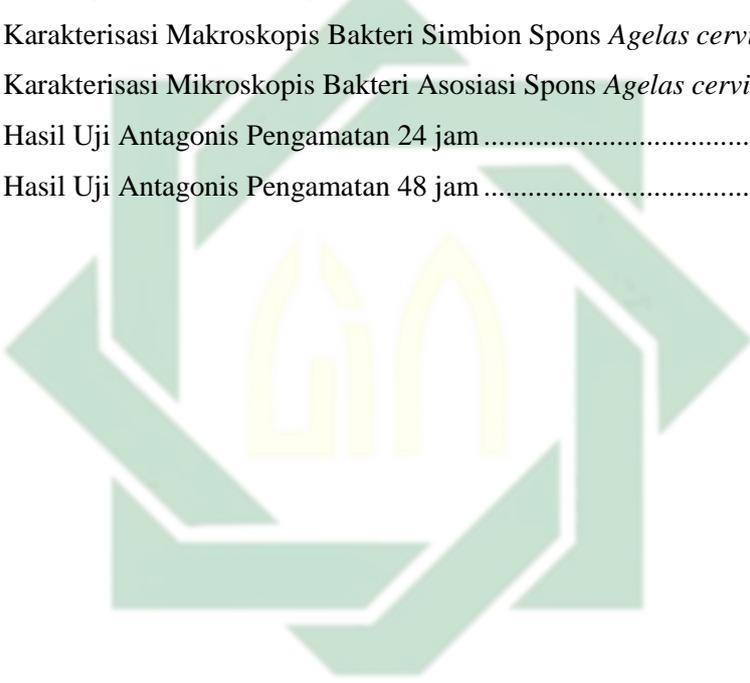
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 <i>Agelas cervicornis</i>	7
Gambar 2. 2 Bakteri Bentuk Kokus	13
Gambar 2. 3 Bakteri Bentuk Basil	13
Gambar 2. 4 Bakteri Bentuk Spiral.....	13
Gambar 2. 5 Fase Pertumbuhan Bakteri	17
Gambar 3. 1 Peta Lokasi Pengambilan Sampel	28
Gambar 3. 2 Tahapan Penelitian.....	32
Gambar 3. 3 Metode Streak Plate	36
Gambar 4. 1 Hasil Identifikasi Sampel Spons <i>Agelas cervicornis</i>	42
Gambar 4. 2 Foto Spons <i>Agelas cervicornis</i>	42
Gambar 4. 3 <i>Agelas cervicornis</i>	43
Gambar 4. 4 Bentuk Spikula <i>Agelas cervicornis</i>	43
Gambar 4. 5 Ekstrak Spons <i>Agelas cervicornis</i>	45
Gambar 4. 6 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Spons <i>Agelas cervicornis</i>	46
Gambar 4. 7 Bakteri Asosiasi Spons <i>Agelas cervicornis</i>	54

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif	12
Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu	24
Tabel 3. 1 Alat yang digunakan dalam Penelitian.....	29
Tabel 3. 2 Bahan yang digunakan dalam Penelitian	31
Tabel 4. 1 Hasil Rendemen Ekstrak Spons <i>Agelas cervicornis</i>	44
Tabel 4. 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Spons <i>Agelas cervicornis</i>	46
Tabel 4. 3 Hasil Uji Antibakteri Pengamatan 24 jam	50
Tabel 4. 4 Hasil Uji Antibakteri Pengamatan 48 jam	50
Tabel 4. 5 Karakterisasi Makroskopis Bakteri Simbion Spons <i>Agelas cervicornis</i>	54
Tabel 4. 6 Karakterisasi Mikroskopis Bakteri Asosiasi Spons <i>Agelas cervicornis</i>	56
Tabel 4. 7 Hasil Uji Antagonis Pengamatan 24 jam	57
Tabel 4. 8 Hasil Uji Antagonis Pengamatan 48 jam	57



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan masalah kesehatan yang penting dan menjadi penyebab kematian terbesar di dunia. Salah satu penyebab terjadinya infeksi adalah dari mikroorganismenya. Penanggulangan terhadap infeksi diantaranya dapat dilakukan dengan pemakaian antibiotik. Mekanisme kerja antibiotik dapat terjadi melalui kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, hambatan sintesis protein maupun asam nukleat (Ritan *et al.*, 2021).

Penggunaan antibakteri seperti antibiotik dari senyawa kimia dapat menyebabkan bakteri mengalami resistensi. Bakteri *Staphylococcus aureus* dilaporkan telah resisten terhadap oksasilin, penisilin dan antibiotik Betalaktam lainnya. Bakteri *Staphylococcus aureus* sebenarnya adalah flora normal pada tubuh manusia, akan tetapi dapat berubah menjadi patogen apabila dalam keadaan yang berlebih (Utami *et al.*, 2016). Permasalahan yang ditimbulkan dari bakteri *Staphylococcus aureus* diantaranya menjadi penyebab infeksi piogenik, diare, sepsis luka bedah, abses payudara, mata lengket hingga lesi lesi kulit (Abidin, 2018). Oleh karena itu diperlukan eksplorasi senyawa antibakteri yang berasal dari bahan alam dan mengandung zat bioaktif yang dapat berfungsi sebagai antibiotik (Aristyawan *et al.*, 2018).

Eksplorasi pemanfaatan bahan alam pada umumnya diambil dari wilayah daratan sedangkan bahan alam yang berada di wilayah lautan belum di eksplorasi secara optimal. Meskipun demikian potensi dari biota laut dalam menghasilkan senyawa bioaktif sangat besar dan dapat digunakan dalam bidang farmasi sebagai bahan baku obat-obatan. Beberapa biota laut berdasarkan penelitian sebelumnya yang menghasilkan senyawa bioaktif adalah karang lunak, moluska, tunikata, bryozoa dan spons (Ismet, 2007).

Spons merupakan hewan multiseluler filum Porifera yang termasuk komponen biota penyusun terumbu karang. Karakteristik spons adalah bersifat *filter feeder* yaitu menyerap, menyaring dan menyempatkan nutrient dalam proses mengolah makanan (Isnaeni & Rahmawati, 2016). Secara umum spons

terlihat tidak memiliki perlindungan karena tidak adanya alat gerak karena hidupnya yang menetap. Spons tidak memiliki saraf, pencernaan maupun sistem peredaran darah. Kelangsungan hidupnya mengandalkan aliran air konstan untuk memperoleh makanan, oksigen dan menghilangkan limbah di samping itu air laut memiliki potensi pencemaran yang cukup tinggi seperti adanya sampah, tumpahan minyak, kecelakaan transportasi laut hingga dinamika penangkapan ikan yang ekstrim. Hal tersebut menjadikan spons memiliki pertahanan ekstra untuk kelangsungan hidupnya sehingga dikenal memiliki kandungan senyawa bioaktif yang bervariasi sesuai dengan kebiasaan makan dari masing-masing jenisnya (Ode *et al.*, 2019). Kandungan senyawa bioaktif yang kaya akan metabolit sekunder pada spons diketahui dapat menangkal dan menghambat bakteri patogen pengganggu (Fajrina *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian menyebutkan ekstrak metabolit spons mengandung golongan senyawa aktif diantaranya peptida, terpenoid, steroid, asetigenin, alkaloid, halida siklik, fenolik asetilnik dan senyawa nitrogen lainnya (Kurniawan *et al.*, 2021). Senyawa tersebut memiliki aktivitas farmakologis dan dapat bermanfaat sebagai antivirus, antibakteri, antikanker, antifungi maupun antiinflamasi. Beberapa spons yang berasal dari genus *Agelas* dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Salah satu contohnya pada penelitian yang dilakukan oleh Aristyawan *et al.*, (2018) spons *Agelas cavernosa* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Selain mengandung senyawa bioaktif dalam tubuhnya yang dapat dimanfaatkan sebagai aktivitas farmakologis, spons dapat digunakan sebagai indikator biologi untuk pencemaran laut, interaksi komunitas maupun dari segi ekonomis sebagai hiasan akuarium laut sehingga keberadaannya menjadi perhatian besar bagi para peneliti (Haedar *et al.*, 2016).

Ditinjau dari sistem makan spons yang mengalirkan air melalui pori-pori kecil yang mengarah ke jaringan terowongan dan ruangan dibagian dalam spons, spons mampu membentuk asosiasi dengan berbagai mikroba. Spons yang memiliki kelimpahan mikroba sering disebut dengan *bacteriosponges*. Kemampuan spons dapat bersimbion dengan bakteri *indigenous* (diisolasi

dalam tubuh) ataupun bakteri *eksogenous* (diisolasi dipermukaan tubuh). Metabolit sekunder yang dimiliki oleh spons diperoleh dari biosintesis simbiotiknya sehingga berdasarkan pernyataan tersebut bakteri asosiasi dari spons memungkinkan memiliki kandungan metabolit sekunder sama seperti inangnya (Judianti *et al.*, 2014).

Sebagian besar bakteri yang berasosiasi dengan spons adalah Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes maupun Actinomycetes. Adanya senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis spons dan memiliki sifat antagonisme diketahui berdasarkan penelitian sebelumnya isolat bakteri spons *Agelas sp* mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus lugdunensis* (Situmorang, 2019). Hal tersebut dapat terjadi karena adanya hubungan asosial dimana bakteri tidak dapat hidup berdampingan dengan bakteri lainnya (Pastra & Surbakti, 2012). Dilaporkan pada beberapa penelitian terkait pemanfaatan spons yang berlebihan dengan tujuan mencari senyawa bioaktif yang berpotensi dalam bidang farmakologis seperti halnya antibakteri dapat mengakibatkan *overfishing* yang dapat merusak ekologi laut. Oleh karena itu apabila bakteri simbiosis yang berasosiasi dengan spons dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya akan lebih mengurangi risiko kerusakan alam. Selain itu pemanfaatan bakteri simbiosis spons lebih menguntungkan karena dapat dikultur dalam skala laboratorium dan dalam waktu relatif singkat dapat diperbanyak dengan mudah (Gultom, 2014).

Pengambilan sampel spons dilakukan berdasarkan survey pendahuluan dan pemangku kepentingan setempat, spons jenis *Agelas cervicornis* diketahui melimpah di wilayah Perairan Wisata Kampung Kerapu. Oleh karena itu dengan meninjau potensi di Kampung Kerapu, potensi yang melimpah seperti spons yang termasuk bahan laut dengan potensi sebagai antibakteri dan memiliki senyawa zat bioaktif yang tinggi maka diperlukan pengembangan dalam bidang pengobatan yaitu sebagai antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana potensi ekstrak spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu Situbondo terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ?

2. Apa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu?
3. Bagaimana hasil uji antagonis bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu.
3. Mengetahui hasil uji antagonis dari bakteri laut asosiasi spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*.

1.4 Hipotesis

Terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak spons *Agelas cervicornis* dan bakteri asosiasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Adanya aktivitas antibakteri menandakan ekstrak spons *Agelas cervicornis* mengandung metabolit sekunder

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sebagai pengetahuan peneliti mengenai potensi antibakteri dari bahan alam khususnya spons terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Sebagai bahan referensi atau bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya dalam bidang antibakteri yang berasal dari bahan alam khususnya yang berasal dari laut.
3. Sebagai salah satu informasi potensi antibakteri dari spons dan bakteri asosiasinya.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah yang ditetapkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Uji yang dilakukan meliputi uji antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* dan uji antagonis bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis*
2. Sampel spons diambil dari Perairan Wisata Kampung Kerapu Situbondo.
3. Sampel spons dan bakteri simbion hanya *Agelas cervicornis*.
4. Penelitian ini hanya terfokus pada bakteri *Staphylococcus aureus*
5. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi spons adalah metanol 96%



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Spons *Agelas cervicornis*

2.1.1 Klasifikasi

Spons *Agelas cervicornis* termasuk kedalam kelas Demospongiae yang merupakan kelas terbesar pada Porifera. Spesies ini cenderung tumbuh menempel pada substrat yang keras seperti bebatuan dan tubuh karang lainnya (Parra-velandia *et al.*, 2014). Berikut susunan taksonomi dari *Agelas cervicornis* berdasarkan www.itis.gov :

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Radiata
Filum	: Porifera
Kelas	: Demospongiae
Ordo	: Agelasida
Famili	: Agelasidae
Genus	: <i>Agelas</i>
Spesies	: <i>Agelas cervicornis</i>

2.1.2 Morfologi

Spons *Agelas cervicornis* memiliki tipe saluran air leucon dengan spikula berbentuk acanthostyles. Spesies ini cenderung berwarna coklat atau dapat juga lebih terang yang disebut tan. Pertumbuhannya bercabang dengan konsistensi yang keras. Spesies *Agelas* spons memiliki metabolit utama pada dua fungsi ekologis, yaitu dengan pencegahan makan dan penghambatan pengendapan mikroorganisme buruk (Parra-velandia *et al.*, 2014).



Gambar 2. 1 *Agelas cervicornis*
(Sumber : www.spongeguide.uncw.edu)

2.2 Ekstraksi

Proses pemisahan pelarut dengan zat terlarut menggunakan titik didih pelarut dengan tujuan memperoleh komponen kimia yang terdapat pada bahan alam adalah ekstraksi. Pada umumnya ekstraksi terdapat dua jenis yaitu dengan menggunakan pemanasan dan tanpa pemanasan (Prayudo *et al.*, 2015). Adapun perbedaan ekstraksi dalam penggunaan pelarut sebagai berikut :

2.2.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode paling sederhana yang dilakukan dengan cara perendaman sampel menggunakan pelarut yang sesuai dalam wadah yang tertutup rapat. Proses maserasi beberapa kali dilakukan pengadukan atau pengocokan pada temperatur ruang kemudian pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan menggunakan kertas saring. Kelebihan dari metode maserasi selain bersifat sangat sederhana, juga menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil. Kekurangan dari metode maserasi adalah waktu yang dibutuhkan relatif lama dan membutuhkan pelarut yang cukup banyak (Tiwari *et al.*, 2011).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode penyarian simplisa yang dilakukan dengan mengalirkan pelarut secara lambat dalam perkolator. Metode ini dapat dilakukan dengan suhu kamar untuk mendapatkan ekstrak yang sempurna. Kelebihan metode perkolasi adalah sampel selalu dialiri pelarut baru. Kekurangan metode perkolasi adalah apabila sampel pada percolator tidak homogen

akan menyebabkan kebutuhan pelarut meningkat karena pelarut kesulitan menjangkau seluruh area sehingga waktu yang dibutuhkan akan semakin lama (Prawirodihardjo, 2014).

2.2.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks merupakan metode perendaman menggunakan pelarut yang dilakukan dalam labu alas bulat yang dilengkapi oleh pendingin untuk selanjutnya dipanaskan sampai mendidih. Kekurangan dari metode refluks adalah senyawa yang bersifat termolabil akan terdegradasi (D. A. Putri, 2014).

b. Sokletasi

Sokletasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang berada pada alas bulat dan sampel berada pada tabung tegak sehingga pelarut akan naik melalui pipa samping untuk kemudian diembunkan oleh kondensor untuk melarutkan senyawa aktif. Kelebihan dari metode sokletasi adalah tidak membutuhkan banyak pelarut dan waktu yang digunakan relatif singkat. Kekurangan dari metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhriani, 2014).

c. Digesti

Digesti merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara pengadukan terus menerus yang dilakukan pada temperatur ruang antara 40 - 50°C (Prawirodihardjo, 2014).

d. Infusa

Infusa merupakan metode ekstraksi menggunakan air dalam temperatur suhu 90°C yang dilakukan selama 15 – 20 menit dengan bejana infus yang tercelup dalam penangas air mendidih.

e. Dekok

Dekok merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut air dengan temperatur suhu 90°C yang dilakukan selama 30 menit. Metode ini digunakan pada sampel yang larut dalam air dan stabil terhadap panas (Tiwari *et al.*, 2011).

2.3 Pemilihan Pelarut

Pelarut merupakan suatu zat yang digunakan untuk membantu melarutkan zat lain. Pelarut dikatakan baik apabila memiliki toksisitas rendah, mudah menguap pada suhu rendah dan dapat mengekstraksi senyawa dengan cepat. Pemilihan pelarut harus sesuai dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Kepolaran suatu pelarut dapat ditentukan dari besarnya konstanta dielektrik, apabila nilai konstanta dielektriknya semakin besar, maka tingkat polaritas suatu pelarut juga akan semakin besar (Islamiyah, 2019).

2.3.1 Air

Air merupakan pelarut yang bersifat universal dan memiliki nilai konstanta dielektrik sebesar 80,3. Kelebihan menggunakan pelarut air adalah karena mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar. Kekurangan dari penggunaan air sebagai pelarut adalah tidak selektif dan dapat menyebabkan kontaminasi yang lebih tinggi dibanding dengan pelarut lain (Prawirodihardjo, 2014).

2.3.2 Metanol

Metanol merupakan pelarut polar dengan konstanta dielektrik sebesar 33,62. Metanol sering digunakan dalam proses ekstraksi bahan alam karena dapat menarik senyawa polar maupun non polar sehingga dapat menghasilkan nilai rendemen yang lebih tinggi dibanding pelarut dengan konstanta dielektrik dibawahnya (Zulharmitta *et al.*, 2010).

2.3.3 Etanol

Etanol merupakan pelarut polar yang memiliki konstanta dielektrik dibawah metanol yaitu sebesar 24,3. Kelebihan dari penggunaan pelarut etanol adalah dapat menarik senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid dan steroid (Oktavia *et al.*, 2013).

2.3.4 Aseton

Aseton merupakan pelarut polar dengan nilai konstanta dielektrik sebesar 20,7 yang dapat melarutkan beberapa komponen senyawa hidrofilik maupun lipofilik. Kelebihan pelarut aseton adalah dapat bercampur dengan air, mudah menguap dan memiliki toksisitas rendah (Verdiana *et al.*, 2018).

2.3.5 Etil asetat

Etil asetat adalah pelarut semi polar yang memiliki nilai konstanta dielektrik sebesar 6,02. Pelarut ini secara selektif dapat menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti golongan terpenoid dan fenol (W. Putri *et al.*, 2018).

2.3.6 n-Heksana

n-Heksana merupakan pelarut non polar dengan konstanta dielektrik sebesar 1,89 yang sering digunakan dalam proses ekstraksi minyak nabati. Pelarut non polar dapat mengekstrak likopen, triterpenoid dan sebagian kecil karotenoid (Prawirodihardjo, 2014).

2.4 Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit terdiri dari dua jenis meliputi metabolit primer dan metabolit sekunder. Perbedaan kedua jenis metabolit tersebut adalah dari segi peran apabila metabolit primer digunakan untuk proses pertumbuhan. Sedangkan metabolit sekunder akan diproduksi ketika tumbuhan mengalami fase tertentu seperti tekanan atau ancaman yang digunakan untuk pertahanan diri (Angin *et al.*, 2019).

Metabolit sekunder merupakan senyawa organik hasil biosintetik turunan dari metabolit primer berupa senyawa bermolekul kecil dengan fungsi, peranan dan struktur yang bervariasi. Keberadaan metabolit sekunder berdasarkan penelitian dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam bidang farmakologi diantaranya sebagai antibakteri, antibiotik, antioksidan, antikanker dan antivirus (Illing *et al.*, 2017). Senyawa metabolit sekunder dapat dilihat dengan pengujian fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung didalamnya. Secara umum metabolit sekunder digolongkan menjadi :

2.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol dan termasuk salah satu senyawa metabolit sekunder terbesar yang terdapat di seluruh bagian tanaman. Senyawa ini bersifat mudah larut dalam pelarut polar diantaranya metanol, etanol, butanol, aseton (Arum *et al.*, 2012). Terdapat beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk

mengisolasi senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid seperti maserasi, refluks, sokletasi maupun sonikasi (S. R. Dewi *et al.*, 2018).

2.4.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki kandungan atom nitrogen terbanyak. Senyawa ini dapat ditemukan pada bagian tumbuhan terutama pada bunga, daun maupun akar (Mukhriani, 2014). Pada umumnya alkaloid mudah larut dalam pelarut organik dan sukar larut dalam air.

2.4.3 Terpenoid / Steroid

Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari karbon dan hidrogen. Senyawa ini diketahui terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Secara umum terpenoid larut dalam lemak dan biasanya dieskraksi dengan menggunakan petroleum eter maupun kloroform (Rahayu *et al.*, 2006). Sedangkan steroid merupakan golongan senyawa triterpenoid yang termasuk senyawa metabolit sekunder diantaranya sterol, glikosida jantung, saponin dan vitamin (Arifuddin, 2013).

2.4.4 Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder terdiri dari gula yang berikatan dengan aglikon. Senyawa ini ditandai dengan munculnya busa stabil ketika dilakukan proses pengocokan (Sangi *et al.*, 2008). Saponin termasuk senyawa bersifat polar sehingga proses ekstraksi pada beberapa penelitian yang menggunakan pelarut metanol karena diketahui dapat menghasilkan ekstrak saponin yang lebih banyak dibanding pelarut lain (Novitasari & Putri, 2016).

2.4.5 Polifenol

Polifenol merupakan senyawa golongan fenol yang memiliki gugus hidroksil lebih dari satu. Polifenol terbagi menjadi dua golongan senyawa yaitu flavonoid dan tanin. Kelebihan dari adanya senyawa polifenol adalah mampu menyumbangkan atom hidrogennya pada radikal bebas (Arif & Tukiran, 2015). Senyawa polifenol sebagian besar bersifat polar sehingga proses ekstraksi yang dilakukan menggunakan metanol agar komponen yang larut lebih banyak (Suryanto & Wehantouw, 2009).

2.5 Bakteri

2.5.1 Definisi Bakteri

Menurut Jawetz *et al.*, (2008) dalam Holderman *et al.*, (2017) organisme prokariotik yang memiliki sel tunggal dan hidup secara berkoloni dikenal dengan sebutan bakteri. Secara genetik bakteri memiliki ukuran dan bentuk yang beragam namun tidak memiliki selubung inti.

Bakteri diklasifikasikan menjadi dua yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Beberapa bakteri diantara kedua golongan tersebut merupakan flora normal dalam tubuh manusia. Flora normal merupakan mikroorganisme yang menempel pada inang tanpa menimbulkan penyakit tertentu (Bulele *et al.*, 2019). Perbedaan keduanya ditandai dengan warna ungu adalah gram positif dan warna merah adalah gram negatif. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan pada bakteri gram positif dinding sel tersusun dari peptidoglikan yang lebih tebal sehingga dapat mempertahankan zat warna violet meskipun telah melewati proses pemberian larutan pemucat. Selain dari segi sifat pewarnaannya, bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif berbeda tingkat sensitivitasnya terhadap kerusakan mekanis, enzim, desinfektan maupun antibiotik (Hamidah *et al.*, 2019). Perbedaan relatif antara bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif menurut (Nurhidayati *et al.*, 2015) sebagai berikut :

Tabel 2. 1 Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif

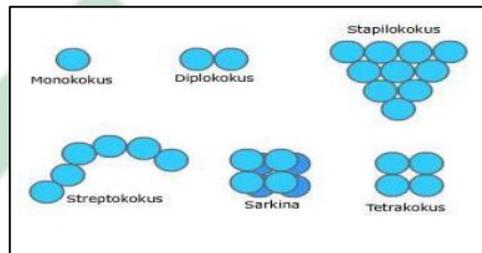
No	Sifat	Perbedaan Relatif	
		Gram Positif	Gram Negatif
1	Penghambat pewarna	Menghambat	Kurang menghambat
2	Komposisi dinding sel	1 - 4%	11 - 22%
3	Ketahanan penisilin	Sensitif	Tahan
4	Kebutuhan Nutrient	Kompleks	Sederhana
5	Ketahanan perlakuan fisik	Tahan	Sensitif

2.5.2 Morfologi Bakteri

Secara umum bakteri memiliki 3 bentuk dasar yaitu kokus, basil dan spiral. Perbedaan diantara keduanya menurut Jannah *et al.*, (2017) adalah sebagai berikut :

a. Kokus

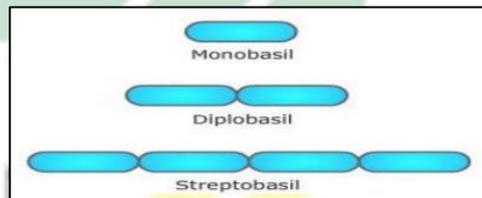
Kelompok bakteri jenis ini memiliki bentuk bulat seperti bola kecil. Kokus hidup bergerombol dan bergandengan membentuk koloni. Secara spesifik kokus dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2. 2 Bakteri Bentuk Kokus

b. Basil

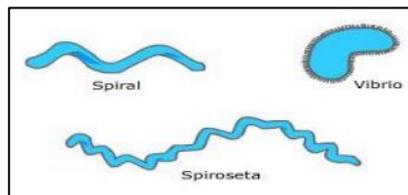
Kelompok bakteri dengan bentuk basil dapat hidup bergandengan panjang, bergandengan dua atau terlepas satu sama lain. Bakteri ini memiliki bentuk batang kecil dan silindris. Berikut gambaran dari morfologi jenis basil :



Gambar 2. 3 Bakteri Bentuk Basil

c. Spiral

Kelompok bakteri jenis spiral adalah bakteri yang memiliki bentuk bengkok. Bakteri jenis ini sangat sedikit jenisnya dibanding dengan kokus maupun basil. Berikut gambaran dari bakteri spiral :



Gambar 2. 4 Bakteri Bentuk Spiral

2.5.3 Faktor Pertumbuhan Bakteri

Proses pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti media tempat berkembang biak, nutrisi yang cukup, suhu yang sesuai, oksigen, pH maupun lingkungan (Wardhani *et al.*, 2020).

a. Nutrien

Bakteri dalam proses pertumbuhannya sama seperti makhluk hidup lain yang memerlukan nutrisi sebagai sumber energi. Bakteri dapat tumbuh dengan cepat apabila nutrien yang digunakan mengandung sumber karbon, sumber nitrogen, mineral meliputi sulfur dan fosfat, asam amino, purin, pirimidin maupun vitamin (Jawetz *et al.*, 2008). Apabila sumber nutrisi tersebut tidak dapat dipenuhi akan mengganggu proses pertumbuhan bakteri hingga dapat menyebabkan kematian. Namun terdapat beberapa bakteri yang hanya membutuhkan jenis nutrisi tertentu untuk pertumbuhannya.

b. Suhu

Faktor lingkungan yang dapat memengaruhi laju pertumbuhan bakteri diantaranya adalah suhu. Suhu berpengaruh terhadap reaksi kimia maupun stabilitas struktur molekul protein. Peningkatan suhu akan menyebabkan peningkatan energi kinetik reaktan sehingga hal tersebut menunjukkan bahwa suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan sel (Subagiyo *et al.*, 2015).

Pada umumnya setiap bakteri membutuhkan suhu optimal yang bervariasi bergantung pada jenis bakteri itu sendiri. Ketika suhu optimal, bakteri akan memperbanyak diri dan tumbuh dengan cepat. Sedangkan apabila suhu terlalu tinggi ataupun terlalu rendah bakteri tetap akan tumbuh dan memperbanyak diri namun tidak secepat dibanding ketika bakteri dalam kondisi suhu yang optimal (Jawetz *et al.*, 2008). Bakteri dikelompokkan menjadi tiga bagian berdasarkan rentang suhu antara lain :

1. Mesofil

Bakteri jenis mesofil merupakan bakteri yang dapat hidup dalam suhu optimal antara 25 - 45°C atau menyukai suhu yang

tidak terlalu panas maupun tidak terlalu dingin untuk pertumbuhannya (Adnyana *et al.*, 2016). Sedangkan suhu untuk pertumbuhan atau toleransinya berkisar antara 10 - 45°C (Jawetz *et al.*, 2008).

2. Psikrofil

Bakteri psikrofil adalah bakteri yang hidup dengan suhu dingin. Bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada suhu dibawah 20°C dengan kisaran suhu optimal antara 10 - 20°C. Meskipun demikian, bakteri psikrofil dapat hidup pada suhu - 5 - 30°C. bakteri jenis ini sering ditemukan pada produk makanan yang memiliki daya simpan dengan suhu rendah. Sehingga bakteri ini akan mati apabila disimpan pada suhu ruang (Jawetz *et al.*, 2008).

3. Termofil

Bakteri termofil merupakan organisme yang menyukai suhu tinggi dengan angka diatas 45°C. Kisaran suhu optimal bakteri ini antara 50 - 60°C. akan tetapi bakteri termofil dapat tumbuh pada suhu antara 25 - 80°C. bakteri termofil memiliki habitat alami yang tersebar di seluruh permukaan bumi seperti pada sumber air panas, kawah gunung berapi maupun pada daerah vulkanik (Tuntun & Huda, 2014).

c. Oksigen

Kebutuhan oksigen tiap organisme sangat beragam. Kebutuhan tersebut mencerminkan mekanisme untuk memenuhi kebutuhan energi. Berdasarkan kebutuhan oksigen, bakteri dapat dipisahkan menjadi lima kategori menurut Jawetz *et al.*, (2008) sebagai berikut :

1. Aerob obligat

Bakteri jenis aerob obligat adalah bakteri yang mampu hidup apabila senantiasa terdapat oksigen disekitarnya. Oksigen dibutuhkan oleh sistem enzim dari bakteri aerob obligat untuk digunakan sebagai *electron aseptor* pada fosforilasi

oksidatifnya. Contoh dari bakteri jenis ini adalah *Bacillus sp.*, *Escherichia coli* dan *Streptococcus* (Puspitasari *et al.*, 2012).

2. Anaerob obligat

Anaerob obligat merupakan bakteri yang tumbuh hanya ketika tidak adanya oksigen atau dapat disebut bakteri ini tidak membutuhkan oksigen dalam hidupnya (Sukara *et al.*, 2019).

3. Anaerob aerotolerant

Bakteri jenis anaerob aerotolerant adalah bakteri yang cukup unik karena hidupnya tidak membutuhkan oksigen namun apabila lingkungannya terdapat oksigen, bakteri ini dapat melindungi diri (Sari & Prayudyaningsih, 2017).

4. Anaerob fakultatif

Bakteri anaerob fakultatif adalah mikroorganisme yang dapat hidup dengan oksigen maupun tanpa oksigen. Dapat beradaptasi dengan baik sehingga dapat dikategorikan aerob dan anaerob (Jawetz *et al.*, 2008).

5. Mikroaerofilik

Bakteri atau mikroorganisme jenis ini membutuhkan oksigen yang rendah dibawah konsentrasi oksigen normal di udara karena tekanan oksigen yang tinggi akan menghambat pertumbuhannya (Jawetz *et al.*, 2008).

d. pH

Secara umum pH merupakan faktor lingkungan yang berperan penting untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Secara optimal bakteri akan tumbuh pada kisaran pH antara 5,7 – 7,0. Akan tetapi sebagian besar bakteri dapat tumbuh dengan optimal ketika pH netral (Kepel *et al.*, 2020).

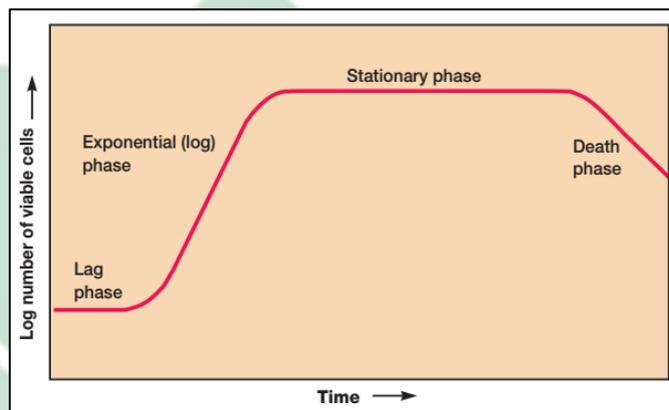
e. Tekanan Osmotik

Peristiwa perpindahan pelarut berdasarkan konsentrasinya dari rendah ke tinggi yang melewati membran semipermeable disebut dengan tekanan osmotik. Tekanan osmotik tinggi akan menyebabkan plasmolysis atau lepasnya membran plasma dari

dinding sel. Sedangkan apabila tekanan osmotik rendah atau berada pada keadaan hipotonis maka akan mengakibatkan pembengkakan hingga kerusakan sel. Sehingga sel bakteri harus berada pada tingkat tekanan osmotik yang sesuai untuk pertumbuhannya (Arivo & Annissatussoleha, 2017).

2.5.4 Fase Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri pada umumnya terbagi menjadi empat fase menurut Hamdiyati (2016) dengan kurva pertumbuhan sebagai berikut :



Gambar 2. 5 Fase Pertumbuhan Bakteri

1. Fase lag

Fase ini sering disebut dengan fase adaptasi dimana suatu mikroba akan menyesuaikan kondisi lingkungan disekitarnya. Cepat lambatnya mikroba pada fase lag ditentukan oleh media lingkungan pertumbuhannya. Apabila media baru memiliki kandungan nutrient yang sama dengan media sebelumnya fase adaptasi tidak akan membutuhkan waktu yang lama. Akan tetapi apabila nutrient pada media baru berbeda dengan sebelumnya diperlukan waktu penyesuaian yang lebih lama.

2. Fase log

Fase log atau disebut fase pertumbuhan eksponensial merupakan fase yang membutuhkan energi paling banyak dibanding dengan fase lainnya. Hal tersebut dikarenakan pada fase ini membelah dengan cepat didukung dengan pH, nutrient, suhu maupun kelembapan dari media yang digunakan. Akhir fase log ditandai dengan kecepatan pertumbuhan populasi yang menurun

diakibatkan beberapa hal diantaranya nutrient pada medium berkurang maupun adanya hasil metabolisme yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

3. Fase stationer

Pada fase ini mikroba akan terus membelah meskipun zat nutrisi telah habis. Akan tetapi ukuran sel pada fase ini akan jauh mengecil dibandingkan pada fase log. Mikroba pada fase stationer lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin maupun radiasi. Jumlah populasi sel pada fase ini tergolong tetap karena jumlah sel yang tumbuh sebanding dengan jumlah sel yang mati.

4. Fase kematian

Fase ini mikroba pada suatu media perlahan mengalami kematian serentak dikarenakan nutrient media dan energi cadangan dari sel telah habis. Kecepatan fase kematian suatu mikroba dipengaruhi oleh kondisi nutrient, lingkungan maupun jenis dari mikroba tersebut.

2.5.5 Bakteri Asosiasi

Komunitas bakteri yang hidup beriringan dengan biota lain dan selalu berinteraksi dalam ekologi di lingkungan laut biasa disebut dengan bakteri asosiasi. Proses metabolisme diantaranya dapat dipengaruhi oleh bakteri asosiasi dan organisme laut, sehingga bakteri asosiasi cenderung menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai pertahanan terhadap patogen maupun organisme *fouling*. Bakteri asosiasi menghasilkan senyawa bioaktif yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang kemungkinan besar sama dengan yang dihasilkan inangnya (Nugroho *et al.*, 2015).

2.6 *Staphylococcus aureus*

2.6.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan patogen utama yang berada di rongga mulut. Bakteri ini tergolong bakteri gram positif yang apabila dalam jumlah normal akan hidup dipermukaan tubuh individu tanpa membahayakan. Lokasi yang sering ditempati adalah sekitar hidung,

mulut, alat kelamin maupun rectum (Misna & Diana, 2016). Bakteri *Staphylococcus* dapat dikatakan toksik ketika jumlahnya mencapai 1.000.000 atau 10^8 per gram (Holderman *et al.*, 2017). Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi ketika kulit mengalami luka atau tusukan benda tajam. Berikut susunan taksonomi dari bakteri *Staphylococcus aureus* antara lain :

Kingdom : Eubacteria
Divisi : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.6.2 Morfologi

Staphylococcus aureus adalah salah satu spesies dari genus *Staphylococcus* yang berbentuk kokus bergerombol dan cenderung terlihat seperti buah anggur (Hayati *et al.*, 2019). *Staphylococcus aureus* memiliki sifat non-motil, non-spora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. Pertumbuhan optimal dari *Staphylococcus aureus* dapat terjadi apabila berada pada lingkungan dengan suhu 6,5 - 46°C dengan pH sekitar 4,2 – 9,3 (A. K. Dewi, 2016).

Staphylococcus aureus cenderung berlimpah di lingkungan perairan laut. Bakteri ini dapat tumbuh pada habitat yang memiliki kadar NaCl sebesar 10%. Secara umum kulit dan membran mukus vertebrata berasosiasi dengan bakteri genus ini. Berdasarkan penelitian sebelumnya, *Staphylococcus aureus* berasosiasi pada hewan karang dan jumlah yang ditemukan cukup tinggi pada daerah terumbu (Ismet, 2004).

2.6.3 Karakteristik

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang bersifat patogen pada manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti pada kulit yaitu impetigo, paronikia, abses, selulitis. Pada tulang maupun sendi dapat menyebabkan penyakit seperti osteomyelitis dan arthritis

septic. Pada organ pernafasan dapat menyebabkan pneumonia. Sedangkan pada organ kardiovaskular dapat menyebabkan endocarditis infeksi. Lebih parahnya, *Staphylococcus aureus* adalah salah satu penyebab utama nosocomial yang diakibatkan luka tindakan operasi maupun pemakaian alat perlengkapan perawatan rumah sakit yang tidak steril (Radji, 2011).

Penggunaan antibiotik yang digunakan untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* telah dikonfirmasi mengalami resisten yang cukup tinggi sekitar 30 – 70 %. Sehingga saat ini dibutuhkan antibiotik lain khususnya dari bahan alam karena dinilai lebih aman dan memiliki efek samping relatif lebih rendah (Lake *et al.*, 2019).

2.7 Antibakteri

2.7.1 Definisi Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa yang mempunyai kemampuan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme yang merugikan. Senyawa antibakteri sebagian besar berasal dari bahan kimia sintetik atau dari bahan alami (Prasetyo & Sasongko, 2014). Antibakteri juga dapat diklasifikasikan dengan komponen atau sistem sel yang memengaruhi apakah antibakteri tersebut dapat menyebabkan kematian sel (agen bakterisidal) atau hanya menghambat pertumbuhan sel (agen bakteriostatik) (Kurama *et al.*, 2020).

Agen antibakteri yang ideal harus mempunyai toksisitas selektif tinggi, yang berarti bahwa suatu obat berbahaya bagi parasit tetapi tidak membahayakan inangnya. Aktivitas senyawa antibakteri dipengaruhi oleh pH, suhu, stabilitas senyawa, jumlah bakteri yang ada, waktu inkubasi dan aktivitas metabolisme bakteri (Yuliani *et al.*, 2017). Agen antibakteri mempunyai peranan penting dalam memerangi infeksi penyakit, namun dengan penggunaan dan penyalahgunaan yang meluas, munculnya resistensi bakteri terhadap obat antibakteri telah menjadi fenomena yang tersebar luas (Hajipour *et al.*, 2012).

2.7.2 Mekanisme Kerja

Faktor terpenting pada proses terjadinya mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan adanya metabolit sekunder. Kandungan metabolit yang ada pada spons dapat menangkal dan menghambat bakteri patogen yang menggangu (Ritan *et al.*, 2021). Target utama dari mekanisme kerja antibakteri yaitu struktur sel antibakteri. Mekanisme kerja antibakteri adalah dengan menyerang membran sitoplasma, kehilangan kestabilan proton dan elektron serta mengkoagulasi komponen penyusun sel (Sasongko *et al.*, 2014).

Mekanisme kerja antibakteri dapat berlangsung dengan berbagai cara, yaitu melalui kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, dan penghambatan sintesis protein dan asam nukleat, ada juga beberapa faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri, antara lain konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, keberadaan bahan organik, suhu, dan pH lingkungan (Fajrina *et al.*, 2018).

2.7.3 Metode Pengujian Antibakteri

1. Difusi

Metode ini merupakan metode yang dapat bekerja dengan inhibitor tertentu dan dapat membentuk gradien konsentrasi senyawa antibakteri.

a. Difusi cakram

Metode difusi cakram memiliki prinsip yakni bahan antibakteri yang terkandung di dalam paper disk selanjutnya ditempatkan di media padat yang berbentuk lempengan, dimana media tersebut telah tercampur dengan bakteri uji. Pengamatan zona hambat atau area jernih yang berada di sekitar kertas cakram dapat teramati setelah media diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Katrin *et al.*, 2015).

Kelebihan metode ini cepat, mudah dan murah karena tidak memerlukan alat khusus dalam pengujiannya. Kekurangan metode ini adalah ukuran zona hambat yang

terbentuk tergantung kondisi inkubasi, inokulum dan ketebalan media.

b. Difusi sumuran

Lempeng agar yang telah diinokulasikan bakteri uji dibuat lubang dan diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu kamar dan dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan disekeliling lubang (Haryati *et al.*, 2017).

Kelebihan metode sumuran lebih mudah mengukur zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas sampai kebawah media. Kekurangan metode sumuran adalah tidak diketahui secara pasti penghambatan bakterisidal ataupun bakteriostatik karena ketebalan media, macam media, dan inokulum.

2. Dilusi

Metode ini dilakukan dengan pengeceran dalam media natrium broth (NB) kemudian ditanami dengan mikroba uji pada konsentrasi tertentu. Metode dilusi terbagi menjadi dilusi cair dan dilusi padat. Kelebihan dari dilusi cair adalah media yang digunakan lebih efisien sedangkan kekurangannya pada metode ini yaitu kekeruhan yang ada pada tabung kurang jelas. Keuntungan dari metode dilusi padat adalah media yang digunakan lebih efisien dan kekurangan pada metode ini sulit untuk memastikan bahwa media agar sudah mencapai pada suhu yang diinginkan (Yulianti, 2012).

2.8 Integrasi Keislaman

Korelasi antara Al-Qur'an dan ilmu pengetahuan dapat dibuktikan secara ilmiah dalam berbagai aspek. Allah SWT menciptakan segala sesuatu tidak dengan cuma-cuma namun memiliki manfaat bagi kehidupan. Sebagaimana firman Allah tentang keanekaragaman hayati laut yang dijabarkan dalam Q.S An Nahl ayat 14 yang berbunyi :

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حَبْلًا حَلِيَّةً تُبْسُونَهَا
وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاحِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ

Artinya :

Dan Dialah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya, dan (dari lautan itu) kamu mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai. Kamu (juga) melihat perahu berlayar padanya, dan agar kamu mencari sebagian karunia-Nya, dan agar kamu bersyukur.

Berdasarkan ayat tersebut membahas mengenai pesan Allah kepada hamba-Nya bahwa laut merupakan salah satu karunia terbesar di muka bumi. Manusia dapat mengambil banyak manfaat dari lautan seperti mengonsumsi daging segar hingga mendapatkan perhiasan seperti mutiara. Semua hal yang ada di lautan diciptakan agar manusia dapat mencari penghidupan dengan memanfaatkan hasil laut dan menjaganya untuk kemaslahatan umat. Dalam ayat tersebut dapat disimpulkan supaya manusia mencari keuntungan dari karunia-Nya dan dapat bersyukur atas karunia tersebut.

Demikian pula pada firman Allah dalam Q.S Al Jatsiyah ayat 12 yang berbunyi :

اللَّهُ الَّذِي سَخَّرَ لَكُمْ الْبَحْرَ لِتَجْرِيَ الْفُلُكُ فِيهِ بِأَمْرِهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ
وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ

Artinya :

Allah-lah yang menundukkan laut untukmu agar kapal-kapal dapat berlayar di atasnya dengan perintah-Nya, dan agar kamu dapat mencari sebagian karunia-Nya dan agar kamu bersyukur.

Maksud dari ayat tersebut adalah Allah telah menundukkan laut yakni memudahkan untuk kemaslahatan umat manusia agar kapal kapal dapat berlayar di atasnya dengan izin dan perintah-Nya agar dapat mencari sebagian karunia-Nya berupa hasil laut melalui perdagangan, mengambil mutiara, berburu ikan, menyelam dan lain sebagainya. Melalui ayat ini kita sebagai umat manusia diperintahkan untuk mengeksplorasi hasil laut demi Karena

sesungguhnya karunia yang Allah berikan sangat besar dan terdapat tanda-tanda kekuasaan-Nya sehingga hendaklah bersyukur atas nikmat yang didapatkan karena penundukkan lautan bagi umat manusia.

2.9 Penelitian Terdahulu

Penelitian ini dilakukan berdasarkan acuan dan keterkaitan dengan penelitian sebelumnya. Penelitian terdahulu yang dapat dijadikan acuan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.2

Tabel 2. 2 Penelitian Terdahulu

Tahun	Nama Penulis	Judul	Metode	Kesimpulan	Perbedaan dengan Peneliti
2016	Angeline E.C Ngantung Deiske A. Sumilat Robert A. Bara	Uji Aktivitas Antibakteri dari Spons <i>Dictyonella funicularis</i> dan <i>Phyllospongia lamellosa</i> yang diambil Pada Perairan Bunaken	Sampel spons dimaserasi dalam larutan etanol selama 1x24 jam selanjutnya disaring dengan kertas <i>Whatman</i> lalu diuapkan dengan <i>Rotary vacuum evaporator</i> pada suhu 40°C. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode cakram kertas dan metode sumur. Bakteri uji adalah <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .	Pengamatan 1x24jam menunjukkan adanya aktivitas daya hambat terhadap bakteri. Spons <i>Dictyonella funicularis</i> memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan <i>Phyllospongia lamellosa</i> . Pengamatan 2x24 jam tidak menunjukkan perubahan yang signifikan oleh karena itu ekstrak spons yang diuji bersifat bakterisidal	1. Peneliti menggunakan pelarut metanol saat proses maserasi 2. Metode uji antibakteri hanya menggunakan difusi cakram
2017	Andhika Dwi A. Noor Erma S. Suciati	Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons <i>Agelas cavernosa</i>	Spons ditimbang 700g dan dikeringkan dengan <i>freeze dryer</i> kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk dan diekstraksi dengan etanol 96% dengan bantuan ultrasonik selama 3 x 10 menit tiap ekstraksi dan dilakukan perulangan sebanyak 3 x24 jam. uji menggunakan bakteri <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode mikrodilusi. Ekstrak etanol 96 % spons <i>Agelas cavernosa</i> memiliki aktivitas antibakteri terhadap <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan aktivitas tertinggi terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan sebesar KHM 150ppm.	1. Spons yang digunakan peneliti tidak melewati proses pengeringan menggunakan <i>freeze dryer</i> 2. Proses ekstraksi peneliti menggunakan metanol 3. Metode yang digunakan peneliti adalah difusi cakram

2018	Aditya P. Pasodung Fitje Losung Esther D. Angkouw Rosita Lintang Desy M.H. Mantiri Deiske A. Sumilat	Uji Aktivitas Antibakteri Spons <i>Plakortis sp.</i> yang dikoleksi dari Perairan Bunaken	Sampel spons dimaserasi dalam larutan etanol selama 1x24 jam selanjutnya disaring dengan kertas <i>Whatman</i> diuapkan dengan <i>Rotary vacuum evaporator</i> pada suhu 40°C. Pengujian antibakteri Fraksi ODS menggunakan konsentrasi dari tiap Fraksi yaitu 10mg/ml. Metode yang digunakan adalah difusi agar. bakteri yang diujikan <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. ekstrak spons <i>Plakortis sp.</i> memiliki bioaktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri <i>E. coli</i> dengan diameter 16,6 mm (Fraksi 1), 17,3 mm (Fraksi 2), 10,3 mm (Fraksi 3), 7,3 mm (Fraksi 4), dan 4 mm (Fraksi 6). Kemudian pada bakteri <i>S. aureus</i> dengan diameter zona hambat 17,6 mm (Fraksi 1), 16,6 mm (Fraksi 2), 10,6 mm (Fraksi 3), 8,0 mm (Fraksi 4), dan 7,6 mm (Fraksi 6).	1. Peneliti saat proses maserasi menggunakan larutan metanol 2. Peneliti menggunakan konsentrasi 0,5 mg/ml; 1 mg/ml dan 1,5 mg/ml
2018	Anzharni Fajrina Dwi Dinni Aulia Bakhtra Yuyun Irenda	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Spons <i>Aplysina aerophoba</i> pada <i>Helicobacter pylori</i> dan <i>Shigella dysenteriae</i>	Sampel spons sebanyak 1kg diekstraksi dengan cara maserasi etil asetat selama 3x24 jam. Pengujian menggunakan metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter hambat di sekeliling cakram kertas, dengan konsentrasi 7%, 5%, 3%, 1%.	Ekstrak etil asetat <i>Aplysina aerophoba</i> mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 10,60 mm; 9,44 mm; 8,3 mm; 5,641 mm pada bakteri <i>Helicobacter pylori</i> . Selanjutnya untuk bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> terbentuk rata-rata diameter hambat sebesar 10,05 mm; 9,63 mm; 6 mm; 4,583 mm.	1. Peneliti menggunakan larutan metanol untuk proses maserasi 2. Konsentrasi yang digunakan peneliti tidak berupa prosentase namun dengan satuan mg/ml
2019	Remus B. Maradou Fitje Losung Remy E.P.M. Rosita A.J.L. Willy E. P. Hariyani Sambali	Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Spons dari Perairan Salibabu Kepulauan Talaud	Sampel spons diekstraksi dengan cara maserasi direndam etanol 95% selama 1x24 jam kemudian disaring dengan kertas <i>Whatman</i> dan dievaporasi dengan suhu 40°C. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar, fraksi air, metanol dan heksan menggunakan metode difusi agar dengan bakteri uji <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak spons <i>Siphonodictyon sp.</i> , <i>Ircinia sp</i> dan <i>Dysidea sp</i> dengan bakteri uji <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> yang memiliki daya hambat paling tinggi adalah <i>Siphonodictyon</i> diikuti oleh <i>Ircinia</i> dan <i>Dysidea</i> .	1. Peneliti menggunakan pelarut metanol saat proses maserasi dan dilakukan selama 3x24 jam

2021	Eunike Palealu Defny W. Surya Sumantri	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons <i>Leucetta chagosensis</i> dari Perairan Pulau Mantehage Sulawesi Utara terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	Sampel di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95% lalu di fraksinasi dengan menggunakan 3 pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu metanol, n-heksan dan kloroform. Uji aktivitas menggunakan metode <i>disk diffusion agar Kirby dan Bauer.</i>	Hanya fraksi MeOH yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri <i>E.coli</i> dengan zona hambat rata-rata 6,88 mm. Sedangkan terhadap bakteri <i>S.aureus</i> ekstrak dan semua fraksi menunjukkan aktifitas menghambat pertumbuhan bakteri dengan rata-rata zona hambat masing-masing EtOH (6,61 mm), CHCl ₃ (6,68 mm), n-Heksan (7,83 mm), dan MeOH (8,00 mm). Semua aktivitas yang ditunjukkan dikategorikan lemah (weak).	1. Pelarut yang digunakan oleh peneliti hanya 1 yaitu metanol
2012	Martina Restuati Endang S. Gultom	Uji Potensi Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Asal Pulau Ngge (Sibolga) Sebagai Sumber Antibakteri	Bakteri yang berasosiasi dengan spons diisolasi dengan metode pengenceran bertingkat dan <i>pour plate</i> pada media NA. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Isolat yang memiliki aktivitas antibakteri diuji sifat biokimianya.	Didapatkan 6 isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons, didapat 3 isolat yang memiliki aktivitas antibakteri (Sp1 dan Sp2 terhadap <i>S. aureus</i> dan Sp4 terhadap <i>E. coli</i>). Ketiga isolat bakteri ini merupakan bakteri gram negatif dan motil.	1. Media yang digunakan oleh peneliti adalah Zobell Marine Agar
2014	Oki W.D. Julianti M.M. Fiqri M.K. Ansyori-KM Guntur T.	Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Demospongiae dari Pantai Paciran Lamongan	Isolat bakteri yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri uji <i>Escherichia coli</i> FNCC 0091 dan <i>Staphylococcus aureus</i> FNCC 0047 menggunakan metode <i>well diffusion assay.</i>	38 isolat bakteri yang enam di antaranya memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>E. coli</i> . Isolat B48 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada bakteri uji <i>Escherichia coli</i> FNCC 0091, sedangkan isolat B52 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> FNCC 0047.	1. Metode uji bakteri asosiasi yang digunakan oleh peneliti adalah difusi agar menggunakan kertas cakram

2015	Hanna M. Rumagit Max R.J. Runtuwene Sri Sudewi	Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons <i>Lamellodysidea herbacea</i>	Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol. Uji fitokimia terdiri dari uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji tanin dan uji steroid	Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada spons <i>Lamellodysidea herbacea</i> meliputi alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin	1. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi adalah etanol 2. Uji fitokimia terdiri dari flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid dan polifenol
2020	Aspina D. Asriani Ilyas Firnanelty	Senyawa Golongan Alkaloid dari Ekstrak Etanol Spons <i>Stylotella sp</i> Asal Kepulauan Selayar	Ekstrak kasar etanol spons <i>Stylotella sp</i> berasal dari proses kromatografi kolom cair vakum	Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam spons <i>Stylotella sp</i> adalah alkaloid dan flavonoid	1. Peneliti melakukan pengambilan ekstrak spons dengan metode maserasi

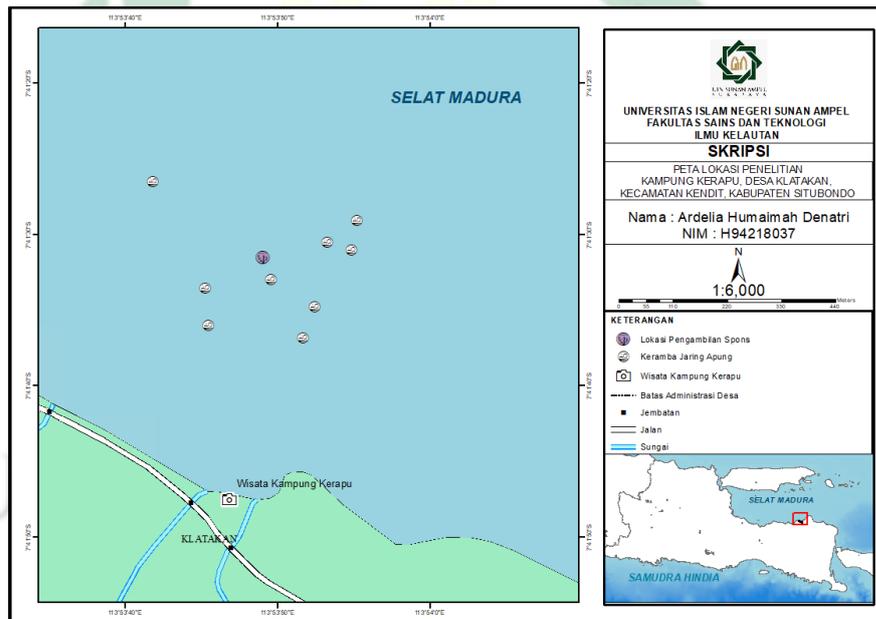
UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2021 hingga Februari 2022. Survey pendahuluan dilakukan pada tanggal 24 – 26 Agustus 2021. Pengambilan sampel dilakukan pada tanggal 16 – 18 September 2021 di Perairan Wisata Kampung Kerapu, Kabupaten Situbondo. Pembuatan ekstrak spons *Agelas cervicornis* beserta bakteri asosiasinya, uji aktivitas antibakteri dan uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Integrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya. Lokasi pengambilan sampel dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 3. 1 Peta Lokasi Pengambilan Sampel

(Sumber : Data Primer)

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.1 dan Tabel 3.2

Tabel 3. 1 Alat yang digunakan dalam Penelitian

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	Aluminium foil	Klin pak 8m x 30cm	Untuk menutup bagian mulut alat-alat yang berupa kaca membungkus sampel bahan
2	<i>Autoclaf</i>	Hirayama Hiclave HG-50	Untuk sterilisasi alat dan media dengan pemanasan basah
3	Botol	Botol kimia 1L	Untuk menyimpan hasil maserasi
4	Botol vial	Terbuat dari kaca 10ml	Untuk menampung cairan, bubuk atau tablet
5	Bunsen	Terbuat dari kaca 150ml	Untuk mensterilisasi dengan pemanasan
6	Cawan Petri	Terbuat dari kaca 150 mm x 25mm	Untuk wadah untuk mengkultur bakteri, spora, khamir dan biji-bijian
7	<i>Coolbox</i>	Terbuat dari sterofoam	Untuk menyimpan sampel agar tetap terjaga kesegarannya
8	<i>Cotton swab</i>	OneMed ukuran M	Untuk meratakan bakteri uji saat proses pengujian antibakteri
9	Corong	IWAKI terbuat dari kaca tidak tahan panas dan terdiri dari berbagai ukuran	Untuk memindah atau memasukkan larutan ke tempat yang mempunyai dimensi pemasukan sampel bahan kecil
10	Erlenmeyer	IWAKI terbuat dari kaca borosilat dengan ukuran 250ml, 500ml dan 1L	Untuk menampung larutan, bahan atau cairan
11	Gelas beker	IWAKI terbuat dari kaca dengan ukuran 50ml, 100ml, 250ml, 500ml dan 1L	Untuk tempat mereaksikan bahan dan tempat menampung bahan kimia berupa larutan
12	Gelas ukur	IWAKI terbuat dari kaca dengan ukuran 10ml	Untuk mengukur volume larutan
13	Gunting	Terbuat dari tembaga dengan dua sisi berlawanan	Untuk memotong bahan yang dibutuhkan pada penelitian
14	<i>Hot plate</i>	Terdiri atas piringan panas, kenop pemutar pengatur suhu dan kabel penghubung	Untuk memanaskan dan mengaduk larutan satu dengan larutan lainnya untuk membuat larutan menjadi homogen dengan bantuan pengaduk batang magnet
15	Inkubator	Terbuat dari stainless steel dengan suhu optimal 5°-70°C	Untuk menumbuhkan mikroorganisme yang ingin ditumbuhkan
16	Jangka sorong	Terbuat dari stainless steel dengan akurasi 0,05mm	Untuk mengukur panjang suatu benda dengan ketelitian hingga 0,1 mm
17	Jarum ose	Terbuat dari gagang kaca ketebalan 7mm dengan ujung kawat	Untuk memindahkan atau mengambil koloni suatu mikroba ke media yang akan digunakan kembali

18	Kamera	Kamera tahan air untuk foto underwater	Untuk mengambil gambar atau dokumentasi penelitian laboratorium
19	Kapas	OneMed ukuran 250g	Untuk menutup mulut pada alat laboratorium yang berbahan kaca agar larutan yang ada pada tabung tersebut tidak menguap
20	Kertas label	FOX ukuran 8 x 20mm	Untuk menandai tabung yang telah terisi larutan kimia
21	Kertas saring	Whatmann diameter 110mm	Untuk memisahkan partikel suspensi dari cairan dan memisahkan antara zat terlarut dari zat padat
22	<i>Laminar air flow</i>	Terbuat dari bahan electro galvanized steel ketebalan 1,2mm dilapisi dengan polyester dilengkapi blowe sebagai pengering dan pengatur aliran udara	Untuk melakukan kegiatan mulai dari persiapan bahan tanam, inokulasi atau penanaman dan pemindahan tanaman dari satu tempat ke tempat yang lain
23	Latex	Sensi Gloves ukuran L	Untuk melindungi kontak langsung dari bahan/zat kimia
24	Mikro pipet	Single channel yang dilengkapi tip kuning maupun biru	Untuk memindahkan cairan yang bervolume cukup kecil, biasanya kurang dari 1000 µl.
25	Mortar dan alu	Umumnya terbuat dari bahan porselen	Untuk menghancurkan atau menghaluskan suatu bahan atau zat yang masih bersifat padat atau kristal
26	Pinset	Pinset GOOI TS-15 terbuat dari stainless steel	Untuk mengambil benda dengan menjepit misalnya saat memindahkan cakram antibiotik
27	Pipet tetes	Terbuat dari kaca dengan bagian karet di atasnya untuk menyedot larutan	Untuk memindahkan cairan dari wadah aslinya ke wadah lain dalam jarak tertentu
28	Plastik wrap	Cling wrap 37m x 38cm	Untuk menutup tabung reaksi atau cawan petri agar cairan yang ada dalam tabung tidak tumpah sewaktu menghomogenkan cairan
29	Plastik ziplock	Ukuran 35 x 40	Untuk menyimpan zat kimia yang berbentuk bubuk, tablet maupun kristal
30	Rak tabung reaksi	Terbuat dari kayu dengan kapasitas 24 tabung reaksi	Untuk meletakkan tabung reaksi
31	<i>Rotary vacuum evaporator</i>	Alat yang terdiri dari labu alas bulat, labu pelampung, kondensor dan main unit	Untuk mengubah sebagian atau keseluruhan sebuah pelarut dari sebuah larutan dari bentuk cair menjadi uap
32	Spidol	Permanen snowman OPF	Untuk menulis atau menandai pada kertas label yang ditempel pada alat laboratorium
33	<i>Spreader</i>	Terbuat dari bahan kaca dengan ujung berbentuk segitiga	Untuk menyebarkan cairan dipermukaan media agar supaya bakteri yang tersuspensi dalam cairan tersebut tersebar merata
34	Tabung reaksi	Terbuat dari bahan kaca yang tahan panas diameter 10-20 mm dengan Panjang 50-200mm	Untuk meletakkan sampel atau larutan

35	Timbangan	Terbuat dari stainless steel dengan tingkat resolusi 0,1mg	Untuk mengukur massa benda
36	<i>Vortex mixer</i>	Alat homogenizer yang terdiri dari lempengan putar dan kabel penghubung listrik	Untuk mencampur sejumlah bahan dalam satu botol

Tabel 3. 2 Bahan yang digunakan dalam Penelitian

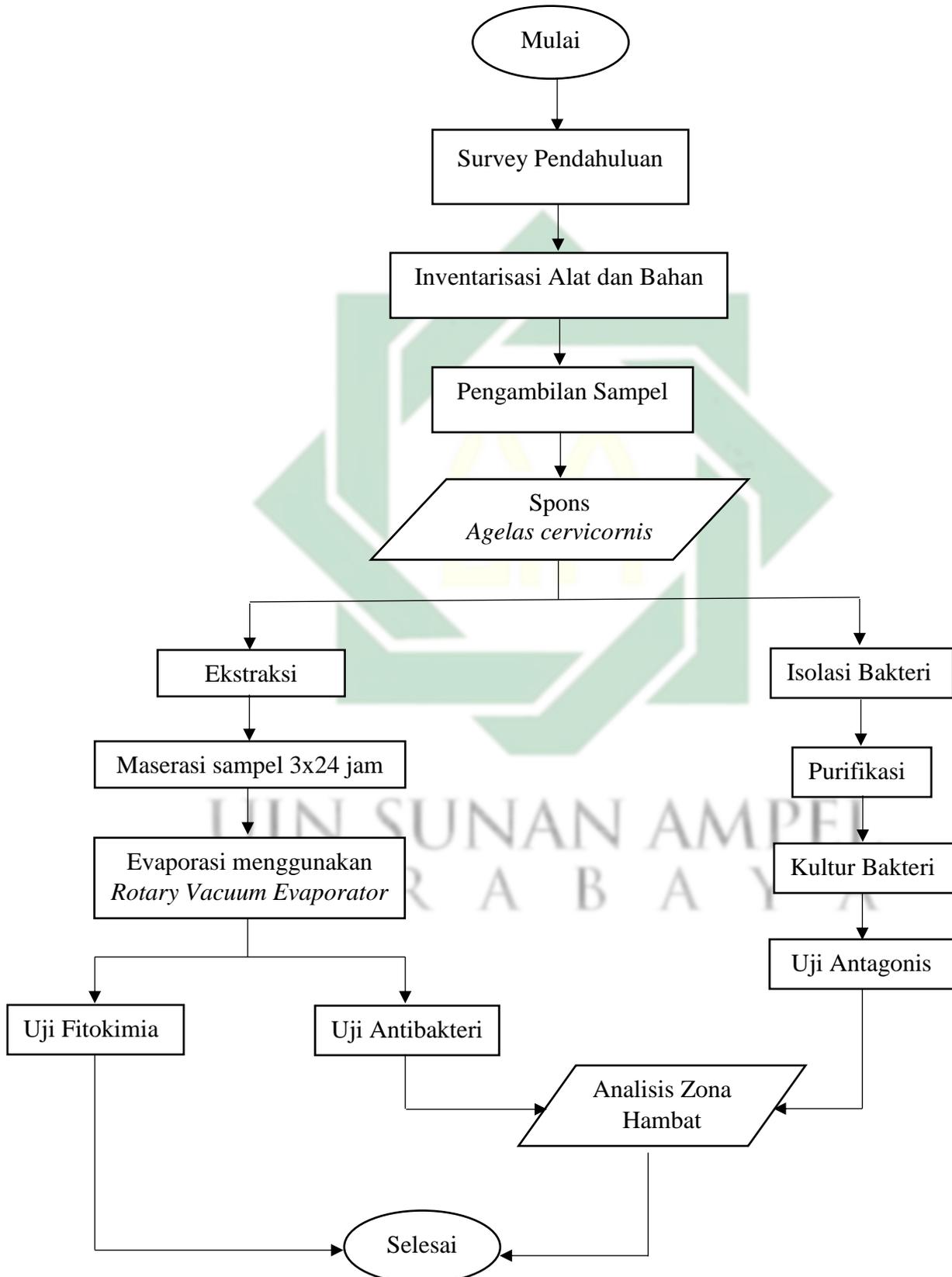
No.	Bahan	Fungsi
1	Air Laut Steril	Untuk mensterilkan sampel setelah diambil
2	Alkohol 70%	Untuk sebagai pelarut senyawa organik
3	Aquades	Untuk sebagai bahan pelarut atau pencampur dari bahan-bahan kimia
4	<i>Dragendorff</i>	Untuk mendeteksi alkaloid dalam sampel uji atau sebagai pewarna
5	Es Batu	Untuk mengawetkan sampel selama dalam coolbox
6	FeCl ₃ 1%	Untuk menganalisa senyawa polifenol dalam pengujian fitokimia
7	Kertas Cakram	Untuk menguji aktivitas antibakteri suatu antibiotik terhadap mikroorganismen patogen dari ukuran zona bening yang berbentuk
8	<i>Lieberman burcand</i>	Untuk mendeteksi dalam pengujian fitokimia uji terpenoid dan steroid
9	Masker	Untuk melindungi pernafasan dari penguapan bahan atau zat kimia
10	Metanol 96%	Untuk sebagai pelarut dari hasil ekstrak
11	Nutrient Broth	Untuk menumbuhkan biakan secara general
12	Spons <i>Agelas cervicornis</i>	Untuk sebagai sampel uji
13	<i>Staphylococcus aureus</i>	Untuk sebagai bakteri uji
14	Tisu	Untuk membersihkan alat
15	Zobell Marine Agar 2216	Untuk membuat media padat

3.3 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : ekstrak spons *Agelas cervicornis* dan bakteri asosiasi
 - a. Variasi konsentrasi 0,5 mg/ml, 1 mg/ml dan 1,5 mg/ml
 - b. Kontrol (+) chloramphenicol , Kontrol (-) metanol
 - c. Waktu pengamatan zona hambat 24 jam dan 48jam
2. Variabel terikat : Daya hambat *Staphylococcus aureus*

3.4 Tahap Penelitian

Tahap penelitian ditampilkan pada Gambar 3.2



Gambar 3. 2 Tahapan Penelitian

3.5 Metode Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan menguji ekstrak spons *Agelas cervicornis* dan bakteri asosiasinya sebagai potensi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Berikut merupakan tahapan yang dilakukan dalam penelitian :

3.5.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi survey pendahuluan, inventarisasi alat dan bahan, sterilisasi alat dan media dan pembuatan media.

1. Survey Pendahuluan

Survey pendahuluan bertujuan untuk melihat kondisi lapangan sekaligus menyerahkan surat perizinan untuk pengambilan sampel pada lokasi penelitian yang sudah ditentukan.

2. Inventarisasi Alat dan Bahan

Pendataan alat dan bahan yang akan digunakan selama proses penelitian berlangsung dan ditempatkan pada lemari penyimpanan dengan pemberian label nama peneliti.

3. Sterilisasi Alat

Sterilisasi merupakan kegiatan yang bertujuan untuk membunuh mikroorganisme. Sterilisasi alat dilakukan sebelum proses pembuatan media untuk menghindari adanya kontaminasi saat ditumbuhkan. Proses sterilisasi basah dilakukan dengan bantuan alat autoklaf uap pada suhu 121°C selama 15 menit. Penggunaan suhu tersebut dengan alasan tekanan 1 atm adalah ketinggian permukaan laut (Istini, 2020).

Alat yang disterilkan pada penelitian ini berbahan kaca meliputi cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur dan *spreader* yang disterilkan dalam kurun waktu 15 menit. Sedangkan proses sterilisasi mikropipet dan tip dilakukan dengan menggunakan alat *laminar air flow*. Pada umumnya lama waktu proses sterilisasi bergantung sifat bahan, tipe wadah dan volume bahan yang disterilkan.

4. Pembuatan Media untuk Penapisan Bakteri Asosiasi Spons

Media yang digunakan adalah air laut steril, *Nutrient Broth* dan *Zobell Marine Agar* 2216. Air laut digunakan untuk proses pengenceran, *Nutrient Broth* digunakan sebagai stok bakteri simbion dan *Zobell Marine Agar* 2216 digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri simbion. Proses pembuatan media uji sebagai berikut :

- a. Media *Nutrient Broth* dan *Zobell Marine Agar* 2216 masing-masing tiap 1000 ml aquades ditimbang sebanyak 13 gr dan 55,25 gram untuk selanjutnya diletakkan dalam Erlenmeyer atau gelas beker. Air laut dituang sebanyak 10ml tiap tabung ke dalam 10 tabung reaksi.
- b. *Nutrient Broth* dan *Zobell Marine Agar* 2216 dipanaskan di atas hotplate sampai homogen dan mendidih
- c. Media *Nutrient Broth*, *Zobell Marine Agar* 2216 dan air laut ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil sebelum disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- d. Media *Zobell Marine Agar* 2216 setelah disterilkan dituang ke dalam cawan petri sesuai kebutuhan. Sedangkan *Nutrient Broth* tetap berada di Erlenmeyer guna proses pengawetan bakteri simbion dan air laut steril tetap berada pada tabung reaksi guna proses pengenceran untuk dibawa ke lokasi pengambilan sampel.

3.5.2 Tahap Pelaksanaan di Lapangan

Ketika persiapan telah selesai dilakukan, dilanjutkan dengan proses pelaksanaan penelitian meliputi pengambilan sampel dan pengenceran, isolasi, purifikasi dan kultur bakteri.

1. Pengambilan Sampel

Sampel spons *Agelas cervicornis* diperoleh dari Perairan Wisata Kampung Kerapu, Kabupaten Situbondo dengan titik pengambilan sampel berada pada koordinat 7°41'31.5"S 113°53'49.0"E. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara

snorkling dan bantuan alat gunting untuk memotong spons. Setelah sampel berhasil diangkat dari perairan, disimpan didalam *coolbox* yang berisi es batu agar sampel tetap segar dan tidak rusak.

2. Pengenceran

Sampel yang telah didapatkan ditimbang sebanyak 10gr untuk kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan alu. Disamping itu media *Nutrient Broth* dituang kedalam tabung reaksi sebanyak 10 ml untuk kemudian ditambahkan sampel kedalamnya. Setelah ditambahkan larutan tersebut dihomogenkan menggunakan vortex mixer. Hal ini ditujukan sebagai stok dari bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis*.

Secara umum pengenceran merupakan proses melarutkan atau pelepasan mikroba dari substratnya ke dalam air. Pengenceran dilakukan dengan tujuan mengurangi konsentrasi larutan sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik. Pengenceran dilakukan dengan bantuan aquades atau air laut dengan tujuan mengurangi kepadatan koloni suatu bakteri (Afifi & Sugiarti, 2016).

Tahap pengenceran dilakukan menggunakan air laut steril sebanyak 9ml tiap tabung dengan total tabung berjumlah 10 buah. Selanjutnya diambil 1ml dari stok bakteri asosiasi untuk ditambahkan pada pengenceran 10^0 dan dihomogenkan. Kemudian dari pengenceran 10^0 diambil 1ml ke dalam 9ml tabung reaksi pengenceran 10^{-1} . Hal tersebut dilakukan berulang hingga mencapai pengenceran 10^{-9} . Hasil pengenceran 10^{-5} , 10^{-7} dan 10^{-9} diambil sebanyak 50 μ L untuk diratakan menggunakan *spreader* pada cawan petri yang berisi media *Zobell Marine Agar* 2216. Hal tersebut dilakukan untuk menumbuhkan bakteri untuk kemudian diinkubasi dalam suhu 37°C selama 2x24 jam

3.5.3 Tahap Pelaksanaan di Laboratorium

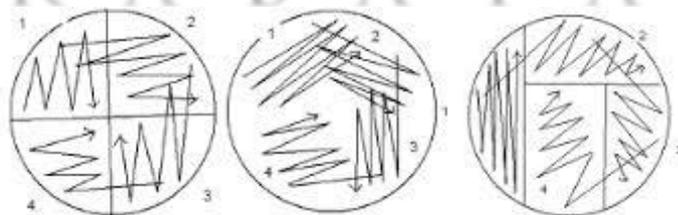
1. Isolasi Bakteri

Lingkungan alami terdiri dari berbagai jenis mikroorganisme yang beranekaragam. Pemisahan bakteri satu dengan lainnya diperlukan guna identifikasi jenis, morfologi, fisiologi maupun karakteristiknya. Pemisahan bakteri tersebut disebut dengan isolasi. Proses isolasi bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri dari media asalnya dan menumbuhkan kembali pada media buatan sehingga diperoleh biakan murni (Sabbathini *et al.*, 2017).

Isolasi bakteri ditujukan untuk melanjutkan proses pengenceran yang telah dilakukan. Isolasi bakteri pada penelitian dilakukan dengan pemberian kode AA, AB, AC dan seterusnya sebanyak isolat yang ditemukan. Proses isolasi menggunakan media *Zobell Marine Agar* 2216 dan diinkubasi selama 2x24 jam.

2. Purifikasi

Proses purifikasi bertujuan untuk memisahkan hasil koloni bakteri yang terbentuk sehingga tidak bercampur dengan jenis lain. Purifikasi dilakukan dengan mengamati hasil isolasi kemudian membuat media baru dalam cawan petri. Setiap cawan petri terbagi menjadi 4 bagian. Metode yang digunakan dalam proses purifikasi menggunakan metode *streak plate* dengan bantuan jarum ose. Hal tersebut dilakukan dengan menggunakan 2 kali perulangan. Seperti halnya proses isolasi bakteri, purifikasi dilakukan pada laminar air flow untuk kemudian diinkubasi pada suhu 37°C.



Gambar 3. 3 Metode Streak Plate

3. Kultur

Setelah bakteri tumbuh pada media cawan purifikasi, dilakukan pengkulturan yang bertujuan untuk memisahkan koloni

bakteri pada cawan miring. Sama halnya dengan proses purifikasi, metode yang digunakan adalah cawan gores dengan bantuan jarum ose yang digoreskan pada tabung reaksi yang telah terisi media miring.

4. Pembuatan Standar *Mc. Farland* untuk Bakteri Asosiasi

Standar *Mc. Farland* 0,5 dibuat dengan cara menyampurkan larutan H₂SO₄ 0,36 N sebanyak 99,5 ml dengan larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% sebanyak 0,5 ml. larutan tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* hingga terbentuk larutan yang keruh. Kekekruhan ini dipakai untuk standar kekekruhan suspensi bakteri uji (Dhuha *et al.*, 2016).

5. Uji Antagonis Bakteri Asosiasi Spons *Agelas cervicornis*

Bakteri simbion yang telah diinokulasikan diambil menggunakan jarum ose untuk disuspensikan dalam 5ml air laut steril kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* kemudian diinkubasi selama 1x24 jam. Bakteri simbion yang diambil sebanyak kebutuhan kekekruhan yang sama dengan kekekruhan standar larutan *Mc. Farland* (Liempepas *et al.*, 2019).

Tahapan uji antagonis dimulai dengan pembuatan media Zobell Broth untuk bakteri patogen kemudian di shaker selama 2 x 24 jam selanjutnya diteteskan sebanyak 50µL pada media Zobell Agar di cawan petri untuk kemudian diratakan menggunakan *cotton swab*. Bakteri simbion yang telah diinkubasi diteteskan sebanyak 20µL pada kertas cakram berdiameter 6mm dan diletakkan pada media *Zobell Marine Agar 2216* dengan 3x pengulangan. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C untuk selanjutnya diamati zona hambat pada 24 jam dan 48 jam.

6. Pembuatan Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Metode yang sering digunakan dalam penelitian uji ekstraksi adalah dengan teknik maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut yang sesuai. Beberapa hal yang mempengaruhi maserasi adalah jenis pelarut dan lama

waktu perendaman. Waktu ideal yang digunakan dalam proses maserasi adalah 3 – 10 hari (Nurmalasari *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini sampel spons *Agelas cervicornis* ditimbang dan dipotong kecil-kecil kemudian direndam dengan menggunakan pelarut metanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan cara perendaman sampel dengan pelarut selama 1x24 jam dengan 3 kali perulangan pada suhu kamar. Setelah 1x24 jam larutan disaring menggunakan kertas saring *Whattman* untuk selanjutnya dikumpulkan dalam botol. Lalu sampel direndam kembali dengan larutan metanol dan proses tersebut diulangi hingga 3x24 jam

7. Evaporasi

Evaporasi merupakan proses yang bertujuan memekatkan larutan yang terdiri dari pelarut dan zat terlarut. Hasil dari proses evaporasi berupa larutan cair pekat yang memiliki konsentrasi tinggi. Beberapa faktor yang dapat memengaruhi kecepatan proses evaporasi adalah kecepatan hantaran panas, jumlah panas yang tersedia, suhu maksimum dan tekanan dalam alat (Era *et al.*, 2012).

Hasil maserasi spons *Agelas cervicornis* dengan metanol dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada 40°C hingga metanol menguap memisahkan diri dan tersisa ekstrak kasar dari spons *Agelas cervicornis* untuk kemudian ditimbang.

8. Uji Fitokimia Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, saponin dan polifenol yang terdapat dalam ekstrak spons *Agelas cervicornis*.

a. Uji Flavonoid

Ekstrak spons *Agelas cervicornis* ditimbang sebanyak 20 mg kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk selanjutnya ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 10%. Apabila sampel mengalami perubahan warna menjadi hitam pekat, coklat, merah, hijau, biru maupun ungu menandakan

bahwa sampel tersebut memiliki kandungan flavonoid (Agustina, 2017).

Menurut Muharrami *et al.*, (2020) sekitar 3 ml ekstrak sampel ditambahkan dengan larutan NaOH 10% sebanyak 1 ml kemudian diamati perubahan warnanya. Apabila warna yang dihasilkan terlihat kuning pekat maka terindikasi ekstrak tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid.

b. Uji Alkaloid

Sebanyak 20 mg ekstrak spons *Agelas cervicornis* dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan HCl dan dicampur secara merata. Selanjutnya ditambahkan beberapa tetes larutan Dragendorff apabila terbentuk endapan berwarna merah bata maka sampel tersebut menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid (Ayu Risky, 2014).

c. Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak spons *Agelas cervicornis* diambil sebanyak 20 mg ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan *Liebermann Burcand*. Ditunggu beberapa saat apabila terjadi larutan sampel mengalami perubahan warna ungu maupun merah menandakan bahwa sampel ekstrak mengandung senyawa metabolit terpenoid. Sedangkan apabila terjadi perubahan warna biru maupun hijau menunjukkan adanya kandungan senyawa steroid (Syafitri *et al.*, 2014).

d. Uji Saponin

Ditimbang ekstrak spons *Agelas cervicornis* sebanyak 20 mg ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 ml air panas untuk selanjutnya dikocok secara vertical. Sampel dapat dikatakan positif mengandung saponin apabila terbentuk gelembung atau busa permanen setelah proses pengocokan (Afriani *et al.*, 2016).

Selain itu dapat dilakukan dengan cara menambahkan 10 tetes aquadest pada 1ml ekstrak sampel kemudian dikocok selama 1 menit. Timbulnya gelembung secara stabil pada larutan sampel menunjukkan adanya senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak tersebut (Apriliani *et al.*, 2020).

e. Uji Polifenol

Sebanyak 20 mg sampel ekstrak spons *Agelas cervicornis* dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk selanjutnya di tetesi sebanyak 10 tetes larutan FeCl₃ 1%. Kandungan fenol akan terdeteksi apabila terjadinya perubahan warna pada sampel menjadi ungu, biru maupun hitam (Nur & Rahmawati, 2019).

9. Uji Antibakteri Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Difusi cakram atau dapat disebut *Kirby-Bauer test* adalah metode yang dilakukan dengan cara peletakan kertas cakram di atas media agar yang telah di tanami mikroorganisme untuk kemudian diinkubasi (Buldani *et al.*, 2017). Pengujian antibakteri dilakukan dengan kertas cakram berdiameter 6 mm dengan 3 konsentrasi yaitu 0,5 mg/ml, 1 mg/ml dan 1,5 mg/ml dengan masing masing konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali perulangan. Tahapan pengujian metode difusi cakram dibagi menjadi dua yaitu :

a. Kultur bakteri patogen

- Disiapkan media *Zobell Agar* untuk kultur bakteri patogen
- Disiapkan *Zobell Broth* untuk menginokulasikan bakteri patogen dan di shaker selama 2 x 24 jam

b. Uji difusi cakram

- Disiapkan media *Zobell Agar* sebagai media penumbuhan bakteri patogen pada cawan petri
- Ditetaskan sebanyak 50µL bakteri patogen yang telah dishaker pada media *Zobell Agar* untuk kemudian diratakan menggunakan *cotton swab*

- Ditetaskan ekstrak spons *Agelas cervicornis* pada kertas cakram sebanyak 20 μ L
- Ditetaskan kontrol (+) dan kontrol (-) pada kertas cakram sebanyak 20 μ L
- Diletakkan kertas cakram di atas media uji bakteri dengan sedikit tekanan agar menempel pada permukaan media
- Dilakukan perulangan sebanyak 3x kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam
- Dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat pada 24 jam dan 48 jam

3.6 Analisis Data

Analisis data untuk uji antibakteri dan uji antagonis meliputi pengamatan dan pengukuran zona hambat yang dilakukan setelah 24 jam dan 48 jam menggunakan jangka sorong. Data uji fitokimia kualitatif dianalisis secara deskriptif.

Ekstrak yang diperoleh melalui proses maserasi hingga evaporasi kemudian dihitung nilai rendemen dengan rumus : (Senduk *et al.*, 2020)

$$Rendemen = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan baku}} \times 100\%$$

Menurut Davis & Stout (1971) dalam Utomo *et al.*, (2018) kriteria penggolongan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut :

- a. Diameter zona hambat > 20 mm : sangat kuat
- b. Diameter zona hambat 10 – 20 mm : kuat
- c. Diameter zona hambat 5 – 10 mm : sedang
- d. Diameter zona hambat 0 – 5 mm : lemah

Selanjutnya untuk data diameter zona hambat dilanjutkan ke uji analisis statistik menggunakan Uji *One Way Anova* setelah melewati uji normalitas dan uji homogenitas. Apabila uji prasyarat tersebut tidak terpenuhi maka dilanjutkan menggunakan Uji *Kruskall Wallis*. Dasar pengambilan keputusan Uji *One Way Anova* adalah :

1. $P < 0,05$ maka H_0 ditolak, terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan
2. $P > 0,05$ maka H_0 diterima, tidak ada perbedaan signifikan antar perlakuan

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Identifikasi Sampel Spons *Agelas cervicornis*

Gambar 4. 1 Hasil Identifikasi Sampel Spons *Agelas cervicornis*

Spons	Pengamatan	Laman Identifikasi	Sampel Peneliti
<i>Agelas cervicornis</i>	Makroskopis	Memiliki warna luar coklat tua dan warna dalam jingga Konsistensi tubuh kaku, sulit robek dan keras Diameter sekitar 3 – 6 cm Panjang mencapai 50 – 100 cm	Sampel spons ketika di dalam perairan berwarna jingga Sampel spons ketika di darat berwarna coklat tua Konsistensi tubuh sampel kaku, keras dan sulit robek Sampel memiliki tubuh panjang, tegak bercabang dan silindris
	Mikroskopis	Spikula berbentuk <i>monaxon styloid</i> dan <i>monaxon strongyle</i>	Spikula sampel spons yang diamati memiliki bentuk <i>monaxon styloid</i> dan <i>monaxon strongyle</i>

Berdasarkan pengambilan sampel spons pada Perairan Wisata Kampung Kerapu Kabupaten Situbondo didapatkan hasil foto *underwater* dari spons *Agelas cervicornis* yang ditunjukkan pada Gambar 4.1:



Gambar 4. 2 Foto Spons *Agelas cervicornis* di Perairan Kampung Kerapu, Situbondo (Sumber : Dokumentasi Pribadi)

Adapun hasil foto sampel spons *Agelas cervicornis* ketika berada di darat ditunjukkan pada Gambar 4.2:

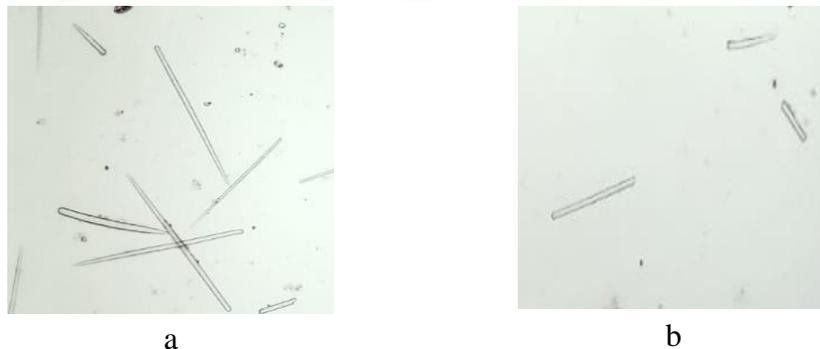


Gambar 4. 3 *Agelas cervicornis*
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

Dokumentasi sampel dilakukan di dalam air dan diatas permukaan air dengan tujuan kepentingan identifikasi jenis. Identifikasi jenis spons dilakukan dengan pengamatan morfologi dan bentuk spikula dengan bantuan mikroskop. Verifikasi bentuk morfologi dilakukan dengan membandingkan hasil dokumentasi dengan portal identifikasi spons pada laman www.spongeguide.uncw.edu dan www.marinespecies.org .

Menurut Parra-velandia *et al.*, (2014) spesies *Agelas cervicornis* biasanya memiliki tubuh yang panjang, tegak bercabang dan silindris. Memiliki diameter sekitar 3 – 6 cm dengan panjang mencapai 50 – 100 cm. Secara umum memiliki warna luar coklat tua dan warna dalam bewarna oranye dengan konsistensi tubuh kaku, sulit robek dan keras. Spikula yang dimiliki spesies ini berbentuk *monaxon styloid* dan *strongyle* dengan bentuk serat *acanthostyle*.

Berdasarkan pernyataan diatas hasil dokumentasi pengamatan mikroskopis spikula sampel spons *Agelas cervicornis* dapat dilihat pada Gambar 4.3:



Gambar 4. 4 Bentuk Spikula *Agelas cervicornis*
(a) Monaxon styloid (b) Monaxon strongyle
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

4.2 Hasil Ekstraksi Spons *Agelas cervicornis*

Hasil ekstraksi spons *Agelas cervicornis* diperoleh ekstrak kental sebanyak 8,2 gram kemudian dihitung nilai rendemen yang ditunjukkan pada Tabel 4.1

Tabel 4. 1 Hasil Rendemen Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Ekstrak	Berat sampel (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
<i>Agelas cervicornis</i>	500	8,2	1,64

Hasil ekstraksi spons *Agelas cervicornis* menunjukkan presentase yang rendah yaitu sebesar 1,64%. Tinggi rendahnya nilai rendemen menandakan jumlah ekstrak yang dihasilkan suatu sampel. Selain itu jumlah rendemen berhubungan dengan senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Maka apabila jumlah rendemen rendah, ekstrak yang dihasilkan semakin sedikit dan kandungan senyawa aktif juga lebih rendah (Dewatisari *et al.*, 2018).

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi besar kecilnya jumlah rendemen hasil ekstraksi diantaranya yaitu waktu saat proses maserasi. Semakin lama waktu yang digunakan saat maserasi akan menghasilkan rendemen yang lebih banyak. Hal tersebut dikarenakan kontak antara sampel dengan pelarut untuk saling berinteraksi memiliki waktu yang banyak sehingga dapat meluruhkan senyawa metabolit sekunder lebih banyak (Sumarni *et al.*, 2019). Selain dikarenakan faktor waktu, terdapat faktor suhu yang mempengaruhi jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Pemilihan suhu harus mempertimbangkan kondisi sampel agar tidak terjadi penguapan senyawa volatil bahan akibat suhu yang tinggi. Suhu terbaik yang digunakan dalam proses maserasi adalah suhu ruang (Cahayanti, 2016).

Pada penelitian ini sampel spons yang digunakan sebanyak 500gr untuk direndam menggunakan pelarut metanol. Metanol dipilih karena menurut Savitri *et al.*, (2017) ekstrak yang dihasilkan dari rendaman spons dengan metanol lebih kental dibandingkan menggunakan pelarut lain yang memiliki kepolaran dibawah metanol. Selain itu metanol yang memiliki rumus senyawa kimia dengan nama CH₃OH dapat melarutkan seluruh golongan pada metabolit sekunder yang bersifat polar maupun non polar sehingga pelarut ini sering digunakan dalam proses maserasi bahan alam.

Proses maserasi dilakukan karena terdapat kelebihan dalam proses isolasi yaitu perendaman sampel akan mengakibatkan pemecahan dinding sel akibat adanya tekanan antara dalam dan luar sel. Hal tersebut yang menyebabkan metabolit sekunder akan terlarut (Hasrianti *et al.*, 2016). Tahap maserasi dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut pada suhu ruang selama 1 x 24 jam. Selama proses perendaman berlangsung dilakukan beberapa kali pengadukan. Filtrat hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring *Whatman* dan disimpan pada botol khusus dan diletakkan pada *freezer* untuk menjaga kualitasnya. Perlakuan tersebut diulangi hingga 3x24 jam.

Proses evaporasi dilakukan ketika proses maserasi telah selesai. Tahapan ini bertujuan menguapkan pelarut yang masih tertinggal sesuai titik didihnya sehingga dapat diperoleh ekstrak kental. Filtrat hasil maserasi dikeluarkan dari *freezer* dan ditunggu hingga suhu ruang untuk selanjutnya dievaporasi dengan suhu 40⁰ pada *rotary vacuum evaporator*. Proses evaporasi memakan waktu cukup lama karena mengubah cairan menjadi ekstrak kental dengan cara menghilangkan pelarut untuk mendapatkan ekstrak dari spons. Ekstrak yang dihasilkan oleh sampel spons *Agelas cervicornis* seperti Gambar 4.4 berikut :



Gambar 4. 5 Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

4.3 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Hasil uji fitokimia ekstrak spons *Agelas cervicornis* berdasarkan perubahan warna yang terbentuk setelah penambahan pereaksi untuk golongan senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid / steroid, saponin dan polifenol dapat dilihat pada Tabel 4.2 :

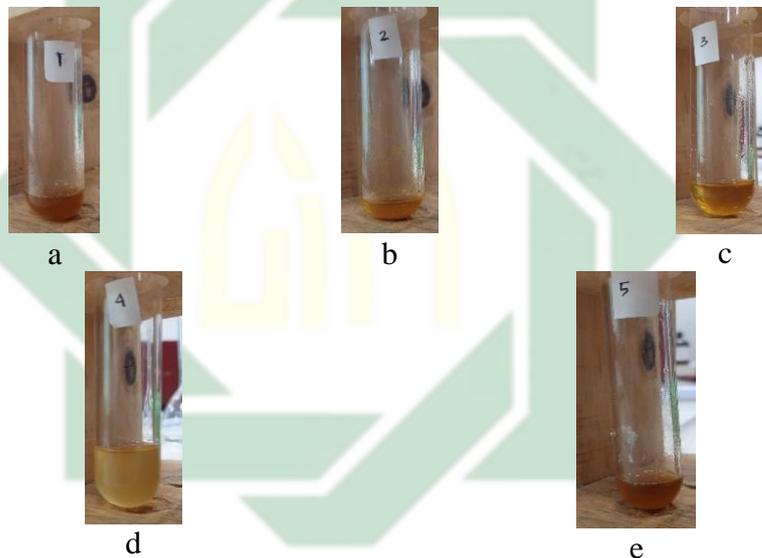
Tabel 4. 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Golongan senyawa	Pereaksi	Acuan Perubahan warna	Perubahan warna sampel	Hasil
Flavonoid	NaOH	Hitam, Coklat	Merah kecoklatan	+
Alkaloid	HCl + Dragendorff	Endapan merah	Endapan merah	+
Terpenoid / Steroid	Liebermann Burcand	Jingga / Biru	Jingga kecoklatan	+
Saponin	Air panas	Terbentuk busa	Tidak berbusa	-
Polifenol	FeCl ₃ 1%	Ungu, Biru	Kecoklatan	-

Keterangan : (+) Terdapat kandungan senyawa

(-) Tidak terdapat kandungan senyawa

Adapun hasil uji fitokimia secara kualitatif terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, saponin dan polifenol dalam ekstrak spons *Agelas cervicornis* dapat diamati pada Gambar 4.5 :



Gambar 4. 6 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

(a) Golongan senyawa flavonoid (b) Golongan senyawa alkaloid

(c) Golongan senyawa terpenoid / steroid (d) Golongan senyawa saponin

(e) Golongan senyawa polifenol

(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

Uji fitokimia ekstrak spons *Agelas cervicornis* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Metabolit sekunder sering dimanfaatkan dalam bidang farmakologi sebagai antibakteri. Pengujian fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan melihat adanya perubahan warna larutan sampel. Perubahan warna akan timbul akibat penggunaan jenis pereaksi tertentu. Perubahan yang dihasilkan dicocokkan dengan standar yang telah ditetapkan (Vifta & Advistasari, 2018). Kandungan metabolit sekunder sangat bervariasi sehingga tidak dapat disamakan antara

biota satu dengan lainnya sehingga diperlukan pengujian fitokimia secara kualitatif maupun kuantitatif (Erlyani, 2012).

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada tabel 4.2 yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak spons *Agelas cervicornis* terbukti positif mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Sedangkan senyawa saponin dan polifenol menunjukkan hasil yang negatif.

Kandungan senyawa yang terdeteksi pada ekstrak spons *Agelas cervicornis* sangat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Penelitian ini menggunakan pelarut metanol. Efektivitas suatu senyawa dalam proses ekstraksi sangat bergantung pada kelarutan senyawa tersebut oleh pelarut yang digunakan (Verdiana *et al.*, 2018). Metanol merupakan senyawa bersifat polar dengan struktur molekul CH_3OH dengan gugus hidroksil (-OH) dan gugus metil (- CH_3) yang dapat menarik senyawa bersifat polar, semi polar maupun non polar (Ramdani *et al.*, 2017).

Flavonoid dilaporkan sebagai senyawa bioaktif paling penting yang dipamerkan berbagai aktivitas biologis seperti antioksidan, anti inflamasi, antimikroba, anti kanker dan anti alergi. Saponin adalah jenis lain senyawa bioaktif yang terlibat dalam aktivitas antimikroba. Sedangkan tanin adalah senyawa fenolik dan turunannya yang dianggap sebagai antioksidan primer atau penangkal radikal bebas (Mhya & Mankilik, 2014).

Suatu mikroorganisme yang memiliki kandungan metabolit sekunder seperti spons sangat kompleks karena dipengaruhi oleh kemampuan adaptasi, ketersediaan makanan serta interaksi intra sel spons itu sendiri. Kandungan senyawa metabolit sekunder spons juga dapat dipengaruhi oleh kondisi substrat dan mikroba asosiasinya. Dilaporkan pada penelitian Roreng *et al.*, (2021) spons sebagian besar mengandung triterpenoid, alkaloid dan saponin.

Flavonoid merupakan golongan senyawa yang mudah larut pada pelarut polar diataranya metanol, etanol maupun aseton. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja yang dapat menghambat fungsi membran sel. Mekanisme tersebut berlangsung dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan

protein ekstraseluler yang akan mengakibatkan rusaknya membran sel sehingga senyawa intraseluler bakteri akan keluar (Arum *et al.*, 2012).

Menurut Sabir (2005) flavonoid dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara melepaskan energi transduksi pada membran sitoplasma bakteri sehingga dapat menyebabkan motilitas bakteri terhambat. Selain itu gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid akan mengakibatkan transpor nutrisi dan perubahan komponen organik yang dapat menimbulkan efek toksik terhadap bakteri pengganggu. Sehingga senyawa golongan flavonoid dapat dikatakan sebagai antibakteri.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Undap *et al.*, (2017) kandungan senyawa yang terdapat pada spons genus *Agelas* memiliki gugus fungsi siklo heksana. Senyawa aktif dengan gugus ini pada umumnya terdapat di alam dengan struktur senyawa flavonoid dan terpenoid dan memiliki aktivitas antibakteri dengan kriteria kuat.

Senyawa alkaloid ditandai dengan endapan berwarna merah. Mekanisme antibakteri dari senyawa alkaloid dengan cara merusak lapisan dinding sel bakteri agar tidak terbentuk secara utuh. Rusaknya lapisan dinding sel bakteri dapat terjadi karena senyawa alkaloid berperan dalam mengganggu komponen penyusun peptidoglikan. Apabila suatu sel hanya terdiri dari membran sel dan dinding sel tidak mengandung peptidoglikan maka akan menyebabkan kerentanan kematian sel (Retnowati *et al.*, 2011).

Struktur dari senyawa alkaloid adalah atom nitrogen dan atom hidrogen pada gugus amina. Senyawa alkaloid dapat berikatan dengan protein, enzim dan reseptor bakteri melalui atom nitrogen yang akan menyumbangkan proton yang berasal dari atom hydrogen. Alkaloid mengganggu penyusunan peptidoglikan melalui atom nitrogen yang berikatan dengan asam amino penyusun sel dan DNA bakteri. Hal tersebut akan berpengaruh terhadap keseimbangan genetik pada rantai DNA karena berubahnya struktur dan susunan asam amino (Budiarti, 2018).

Produk alam yang berasal dari laut sebagian besar diwakili dengan kandungan metabolit sekunder golongan alkaloid yang terkandung dalam spons. Spons mengandung alkaloid kelas manzamine, bromopirrol dan senyawa

turunan bromotirosin. Genus *Agelas* pertama kali ditemukan mengandung alkaloid bromopirol pada tahun 1971 yang dianggap menarik karena memiliki aktivitas farmakologis seperti sitotoksitas, antimikroba dan aktivitas imunosupresif (Ebada & Proksch, 2012).

Senyawa terpenoid merupakan senyawa yang terdiri dari karbon dan nitrogen. Sedangkan steroid merupakan golongan dari senyawa triterpenoid. Perbedaan dari keduanya dapat dilihat dari warna yang dihasilkan setelah penambahan pereaksi. Suatu ekstrak dapat dikatakan mengandung senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid apabila menunjukkan warna ungu atau merah. Sedangkan suatu ekstrak dapat dikategorikan mengandung senyawa steroid apabila menunjukkan warna biru atau hijau (Syafitri *et al.*, 2014).

Mekanisme kerja antibakteri dari golongan senyawa triterpenoid adalah dengan larut dalam lemak sehingga memudahkan dalam menembus membrane sel kemudian mempengaruhi permeabilitasnya sehingga dapat menimbulkan gangguan terhadap struktur maupun fungsi membrane sel (Prayoga *et al.*, 2019). Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri adalah dengan menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu membrane lipid karena sensitif terhadap komponen steroid sehingga terjadi kebocoran pada liposom bakteri (Sapara & Waworuntu, 2016).

Sebagai salah satu spons paling umum di daerah tropis dan subtropics spons genus *Agelas* saat ini terdapat 36 spesies yang valid dengan metabolit sekunder yang diisolasi dari spons laut genus *Agelas* dari penemuan pertama tahun 1971 sampai November 2021 adalah golongan alkaloid, terpenoid, glycosphingolipids, sterols, carotenoids dan *other types*. Golongan terpenoid yang telah ditemukan dari genus *Agelas* adalah *9-N-Methyladeninium terpenoids*, *terpenoids of hypotaurocyamine* dan *other terpenoids alkaloid* (Jun Chu *et al.*, 2022).

4.4 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Hasil pengukuran zona hambat antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* terhadap *Staphylococcus aureus* pada pengamatan 24 jam dapat dilihat pada Tabel 4.3 :

Tabel 4. 3 Hasil Uji Antibakteri Pengamatan 24 jam

Konsentrasi	Rata-rata ± SD (mm)	Kriteria hambatan
K (+) chloramphenicol	11,03 ± 0,47	Kuat
K (-) methanol	0,00 ± 0,00	Tidak ada
netral (aquades)	0,00 ± 0,00	Tidak ada
0,5 mg/ml	0,07 ± 0,05	Lemah
1 mg/ml	1,10 ± 0,10	Lemah
1,5 mg/ml	2,05 ± 0,05	Lemah

Keterangan : diameter zona hambat tidak termasuk kertas cakram

Adapun hasil pengukuran zona hambat antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* terhadap *Staphylococcus aureus* pada pengamatan 48 jam dapat dilihat pada tabel 4.4 :

Tabel 4. 4 Hasil Uji Antibakteri Pengamatan 48 jam

Konsentrasi	Rata-rata ± SD (mm)	Kriteria hambatan
K(+) chloramphenicol	11,75 ± 0,47	Kuat
K(-) methanol	0,00 ± 0,00	Tidak ada
netral (aquades)	0,00 ± 0,00	Tidak ada
0,5 mg/ml	0,13 ± 0,05	Lemah
1 mg/ml	1,32 ± 0,10	Lemah
1,5 mg/ml	2,22 ± 0,10	Lemah

Keterangan : diameter zona hambat tidak termasuk kertas cakram

Uji antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan kertas cakram berukuran 6mm. Metode ini dipilih dengan tujuan memperhatikan kesederhanaan teknik, ketelitian dan sering digunakan dalam uji kepekaan antibiotik pada pengendalian mutu (Ritan *et al.*, 2021). Uji daya hambat ekstrak spons *Agelas cervicornis* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan 3 konsentrasi uji yaitu 0,5 mg/ml, 1 mg/ml dan 1,5 mg/ml. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri gram positif yakni biakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Lampung adapun pengukuran zona hambat yang terbentuk saat uji potensi antibakteri diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian mm (milimeter).

Selain ekstrak spons *Agelas cervicornis* larutan yang diujikan berupa kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-). Kontrol positif menggunakan chloramphenicol dikarenakan merupakan antibiotik dengan spektrum kerja luas dan memiliki mekanisme kerja yang dapat menghambat sintesis dinding

sel bakteri (Sinurat *et al.*, 2019). Sedangkan kontrol negatif menggunakan pelarut yaitu metanol. Kontrol negatif berfungsi untuk melihat media tersebut telah steril dan aktivitas zona hambat tidak dipengaruhi oleh pelarut (Opa *et al.*, 2018).

Pada tabel 4.3 dapat diketahui perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dari hasil uji potensi ekstrak spons *Agelas cervicornis* terhadap *Staphylococcus aureus*. Pada pengamatan 24 jam ekstrak dengan konsentrasi 0,5 mg/ml menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 0,07 mm. Pada konsentrasi 1 mg/ml dihasilkan zona hambat sebesar 1,10 mm. Pada konsentrasi 1,5 mg/ml memiliki zona hambat sebesar 2,05 mm. Sedangkan pada perlakuan kontrol (+) chloramphenicol menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter zona hambat terbesar yaitu 11,03 mm. Pada perlakuan kontrol (-) pelarut metanol dan kontrol netral tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter zona hambat 0,00 mm.

Berdasarkan data yang didapatkan sesuai tercantum pada tabel 4.4 dapat disimpulkan ekstrak spons *Agelas cervicornis* bereaksi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada pengamatan 48 jam yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang lebih luas dan bervariasi pada konsentrasi yang berbeda. Hasil pengujian menunjukkan rata-rata diameter zona hambat untuk konsentrasi 0,5 mg/ml sebesar 0,13 mm. Pada konsentrasi 1 mg/ml memiliki zona hambat sebesar 1,32 mm. Pada konsentrasi 1,5 mg/ml menunjukkan adanya zona hambat sebesar 2,22 mm. Zona hambat terbesar ditunjukkan pada perlakuan kontrol (+) menggunakan chloramphenicol sebesar 11,75 mm. Sedangkan pada kontrol (-) menggunakan pelarut metanol dan kontrol netral menggunakan aquades tidak menunjukkan adanya zona hambat.

Hasil uji antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* dari ketiga konsentrasi berbeda dapat dikategorikan memiliki kandungan senyawa antibakteri dengan daya hambat lemah. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya adalah pemilihan konsentrasi uji untuk ekstrak yang digunakan. Konsentrasi ekstrak yang tinggi lebih mempengaruhi daya hambat zat antibakteri karena senyawa aktif atau metabolit sekunder

didalamnya akan berperan lebih besar dibandingkan dengan kadar konsentrasi yang rendah (Jawa, 2016). Selain itu konsentrasi ekstrak juga berpengaruh terhadap kecepatan kematian bakteri. Apabila ekstrak diberikan dengan konsentrasi tinggi dan mengandung senyawa metabolit sekunder maka akan menghambat dinding sel, membrane sel, sistesis protein maupun sintesis asam nukleat yang menyebabkan kematian bakteri lebih cepat (Karmila, 2016).

Pada perlakuan kontrol positif terlihat adanya zona hambat yang lebih luas dibanding dengan ekstrak spons *Agelas cervicornis* yang digunakan dalam pengujian. Pemilihan chloramphenicol sebagai kontrol positif karena dalam aktifitasnya dapat menghambat sintesis protein yang berlangsung di ribosom (Dian *et al.*, 2015). Sehingga dalam pengujian terbukti dengan nilai diameter zona hambat yang lebih besar dan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan mekanisme kerja antibakteri dibedakan menjadi bakteriostatik dan bakterisidal. Penggolongan sifat antibakteri tersebut dilihat dari pengamatan 24 jam dan 48 jam. Sampel dapat dikategorikan bakteriostatik apabila menghambat metabolisme sel mikroba dengan ikatan sementara karena ketika konsentrasi maupun stabilitas menurun, bakteri dapat tumbuh kembali. Sebaliknya sampel dapat dikategorikan bakterisidal apabila dapat mencegah pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian sel mikroba (Trisia *et al.*, 2018).

Hasil penelitian berdasarkan pengamatan zona hambat 24 jam dan 48 jam menunjukkan bahwa ekstrak spons *Agelas cervicornis* yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan konsentrasi 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 1,5 mg/ml dan kontrol positif berupa kloramfenicol memiliki aktivitas bakterisidal.

4.5 Hasil Uji Statistika Efektifitas Konsentrasi Ekstrak Spons *Agelas cervicornis*

Data zona hambat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan SPSS 16. Uji statistik terdiri dari uji normalitas dan uji homogenitas dengan dasar pengambilan keputusan :

4.5.1 Uji Normalitas

Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dari data zona hambat potensi antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* diketahui berdistribusi normal. Hal tersebut dibuktikan dengan nilai signifikasi

sebesar 0,150 yang menunjukkan jika nilai tersebut $> 0,05$ maka tergolong distribusi normal. Kemudian setelah dilakukan uji normalitas, dilanjutkan dengan uji homogenitas *levene test* dan diperoleh nilai signifikansi ekstrak *Agelas cervicornis* sebesar 0,935 yang menunjukkan bahwa varian data homogen.

4.5.2 Uji One Way Anova

Uji *One Way Anova* dapat dilakukan ketika hasil uji normalitas adalah berdistribusi normal dan hasil uji homogenitas adalah varian data homogen. Berdasarkan hasil Uji Anova diketahui nilai signifikansi sebesar 0,941 yang menunjukkan nilai tersebut $> 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima dan tidak terdapat perbedaan rata-rata zona hambat ekstrak spons *Agelas cervicornis* dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda. Maka perbedaan rata-rata zona hambat secara deskriptif tidaklah signifikan. Hal tersebut dikarenakan jarak antara pemilihan konsentrasi satu dengan lainnya relatif dekat sehingga hasil pengujian anova menunjukkan nilai $> 0,05$

4.6 Hasil Karakterisasi Bakteri Asosiasi Spons *Agelas cervicornis*

Bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis* setelah di tumbuhkan pada media *Zobell Marine Agar 2216* selanjutnya diamati secara makroskopis dan mikroskopis guna memisahkan masing-masing isolat.

4.6.1 Karakterisasi Makroskopis

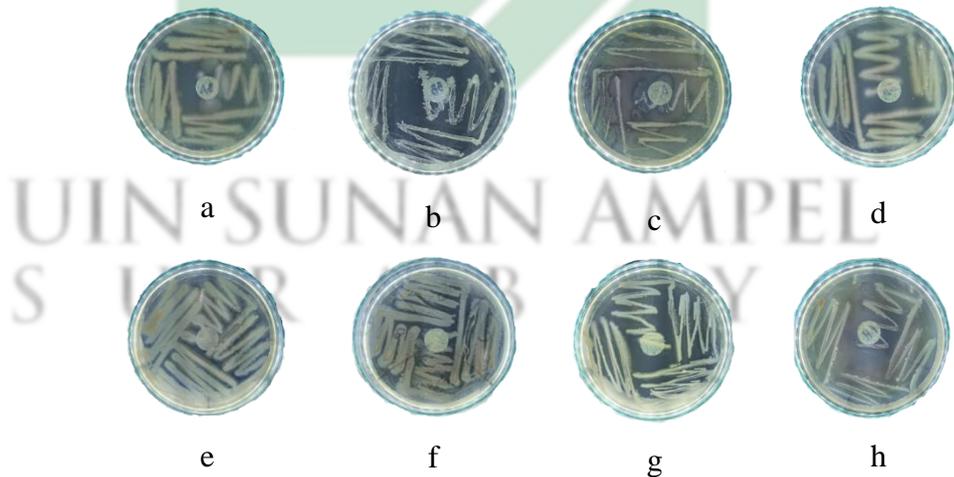
Hasil isolasi diperoleh 8 isolat pada *Agelas cervicornis*. Jenis isolat dibedakan berdasarkan morfologi, ukuran maupun bentuk koloni. Tahapan pembedaan jenis koloni ini dilakukan secara makroskopis. Delapan isolate bakteri diberi kode AA, AB, AC, AD, AE, AF, AG dan AH. Perbedaan tersebut memungkinkan adanya perbedaan aktivitas masing masing isolat yang digunakan untuk pengujian selanjutnya. Hasil identifikasi isolat bakteri simbion *Agelas cervicornis* dapat diamati pada Tabel 4.5 :

Tabel 4. 5 Karakterisasi Makroskopis Bakteri Simbion Spons *Agelas cervicornis*

Jenis Spons	Isolat	Warna	Bentuk Koloni	Elevasi	Tepi koloni
<i>Agelas cervicornis</i>	AA	Coklat	Bulat	Timbul	Berserabut
	AB	Kuning	Bulat	Timbul	Halus
	AC	Kuning	Lonjong	Datar	Berombak
	AD	Kuning	Berserabut	Timbul	Bergigi
	AE	Kuning	Lonjong	Datar	Bergigi
	AF	Coklat	Tidak teratur	Datar	Berserabut
	AG	Kuning	Tidak teratur	Datar	Berombak
	AH	Coklat	Tidak teratur	Datar	Berombak

Kemudian setelah berhasil dilakukan identifikasi morfologi bakteri simbion yang terdapat pada spons *Agelas cervicornis* dilakukan pemurnian isolat dengan cara purifikasi setiap isolat dengan morfologi yang berbeda. Purifikasi dilakukan dengan menggoreskan 1 jarum ose dari hasil isolasi pada cawan petri yang berisi media *Zobell Marine Agar* 2216 dengan bentuk zig-zag. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam.

Adapun hasil purifikasi bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis* pada media *Zobell Marine Agar* 2216 cawan petri dapat dilihat pada Gambar 4.6 :



Gambar 4. 7 Bakteri Asosiasi Spons *Agelas cervicornis*
 (a) bakteri isolat AA (b) bakteri isolat AB (c) bakteri isolat AC
 (d) bakteri isolat AD (e) bakteri isolat AE (f) bakteri isolat AF
 (g) bakteri isolat AG (h) bakteri isolat AH
 (Sumber : Dokumentasi Pribadi)

Apabila proses pemurnian bakteri dikira terlalu memakan banyak media atau tempat, maka terdapat alternatif lain untuk melakukan pemurnian bakteri di media miring atau media cawan petri.

Bakteri yang berasosiasi dengan spons menurut Setyati *et al.*, (2016) dapat menghasilkan enzim hidrolitik ekstraseluler yang baik dikarenakan permukaan maupun ruang internal spons memiliki nutrisi berlebih. Hal lain yang menjadi keistimewaan bakteri asosiasi spons adalah mampu menghasilkan metabolit sekunder bagi inangnya sebagai suatu pertahanan kimia apabila terdapat predator di sekitarnya.

Keanekaragaman jumlah isolat bakteri simbiosis suatu jenis spons memungkinkan adanya perbedaan yang disebabkan oleh cara isolasi maupun media tumbuh yang digunakan. Menurut O'Halloran *et al.*, (2011) diperoleh 73 isolat bakteri simbiosis pada spons *Polymastia boletiformis.*, *Axinella dissimilis* dan *Haliclona simulans*. Sedangkan menurut (Murniasih & Rasyid, 2010) dilaporkan memperoleh 75 isolat bakteri simbiosis spons *Theonella sp.*, *Aaptos sp.*, *Melophlus sarassinorum.*, *Callyspongia sp.*, *Ircinia sp.*, *Stylissa flabeliformes*, *Lisoclinum sp.*, dan *Clarithria sp.* Dilaporkan keduanya menggunakan media Zobell Marine Agar untuk menumbuhkan isolat bakteri. Menurut Taylor *et al.*, (2007) bakteri yang berasosiasi dengan spons dapat terjadi melalui dua proses yaitu *filter feeder* yang masuk ke dalam spons ataupun melalui tahapan reproduksi spons.

4.6.2 Karakterisasi Mikroskopis

Selain pengamatan morfologi secara makroskopis, dilakukan pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan gram. Pada tahap pewarnaan gram seluruh kode bakteri diamati berdasarkan struktur dinding selnya. Pengamatan ini dilakukan dengan bantuan mikroskop perbesaran 100x. Adapun hasil pengamatan karakter mikroskopis mengenai bentuk dan reaksi gram dari bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis* dapat diamati pada Tabel 4.6 :

Tabel 4. 6 Karakterisasi Mikroskopis Bakteri Asosiasi Spons *Agelas cervicornis*

Jenis spons	Isolat	Bentuk	Gram
<i>Agelas cervicornis</i>	AA	Batang	Negatif
	AB	Batang	Negatif
	AC	Batang	Negatif
	AD	Batang	Negatif
	AE	Batang	Negatif
	AF	Batang	Positif
	AG	Batang	Negatif
	AH	Batang	Positif

Pewarnaan gram terbagi menjadi dua tipe yaitu gram positif dan gram negatif. Perbedaan keduanya dapat terlihat jelas dari segi warna yang dihasilkan. Pada bakteri gram positif nampak berwarna ungu dikarenakan bakteri gram positif mampu mempertahankan zat warna gentian violet. Hal tersebut diakibatkan bakteri gram positif sebagian besar tersusun oleh peptidoglikan. Sedangkan bakteri gram negatif akan menunjukkan warna merah. Sebagian besar kandungan bakteri gram negative adalah lapisan lipid, sehingga apabila dibilas dengan alkohol lipid akan rusak dan mengakibatkan kurangnya mempertahankan zat warna utama atau gentian violet (Ginting *et al.*, 2019).

Sifat asam dan basa pada pewarnaan gram meliputi gentian violet, iodin, etanol 96% dan safranin. Gentian violet bertujuan sebagai pewarna utama permukaan sel. Iodin berfungsi sebagai zat warna basa yang bertujuan memperkuat pengikatan warna oleh bakteri. Etanol 96% berfungsi sebagai zat warna asam yang dapat mengakibatkan pori pori dinding sel mempunyai banyak lipid. Sedangkan safranin memiliki fungsi sebagai pembeda atau kontras terhadap zat warna gentian violet (Hafsan *et al.*, 2016).

Berdasarkan pengamatan mikroskopis semua isolat bakteri memiliki bentuk batang. Bakteri gram positif ditunjukkan pada isolat AF dan AH. Sedangkan bakteri gram negatif ditunjukkan pada isolat AA, AB, AC, AD, AE dan AG. Pernyataan diatas sesuai dengan pernyataan Ginting *et al.*, (2019) bahwa sebagian besar bakteri yang hidup di laut berbentuk batang dan tergolong sebagai bakteri gram negatif. Bakteri yang berasal dari laut pada umumnya bergerak secara aktif diakibatkan adanya flagel

yang dimiliki bakteri dengan bentuk batang sebagai alat gerak untuk mencari kondisi lingkungan yang menguntungkan.

Bakteri lain yang berbentuk bulat tidak memiliki flagel layaknya bakteri batang sehingga keberadaan bakteri ini akan mudah ditemukan pada substrat tempat pelekatnya. Bakteri bentuk bulat akan terikat maupun bergabung dengan sesamanya untuk membentuk permukaan yang kuat (Wantania *et al.*, 2016).

4.7 Hasil Uji Antagonis Bakteri Asosiasi Spons *Agelas cervicornis*

Hasil uji antagonis bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya kemampuan antibakteri yang ditandai dengan munculnya zona hambat di sekitar kertas cakram. Hasil pengukuran zona hambat uji pengamatan 24 jam dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4. 7 Hasil Uji Antagonis Pengamatan 24 jam

Kode Isolat	Rata-rata ± SD (mm)	Kriteria hambatan
AA	0,83 ± 0,55	Lemah
AB	0,00 ± 0,00	Tidak ada
AC	0,55 ± 0,52	Lemah
AD	1,35 ± 1,10	Lemah
AE	0,87 ± 1,24	Lemah
AF	0,00 ± 0,00	Tidak ada
AG	0,55 ± 0,50	Lemah
AH	0,68 ± 0,63	Lemah

Keterangan : diameter zona hambat tidak termasuk kertas cakram

Adapun hasil pengamatan 48 jam uji potensi antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 4.8:

Tabel 4. 8 Hasil Uji Antagonis Pengamatan 48 jam

Kode Isolat	Rata-rata ± SD (mm)	Kriteria hambatan
AA	5,03 ± 1,14	Sedang
AB	0,00 ± 0,00	Tidak ada
AC	1,62 ± 0,51	Lemah
AD	2,03 ± 1,09	Lemah
AE	1,85 ± 1,08	Lemah
AF	0,00 ± 0,00	Tidak ada
AG	1,77 ± 1,15	Lemah
AH	1,93 ± 1,14	Lemah

Keterangan : diameter zona hambat tidak termasuk kertas cakram

Delapan isolat yang diperoleh dari proses isolasi dan pemurnian bakteri simbion spons *Agelas cervicornis* dilakukan pengujian antagonis terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan untuk menganalisis kemampuan isolat bakteri simbion dalam aktivitas antibakteri atau penghasil substansi antibakteri. Pengujian menggunakan metode difusi cakram dengan kertas cakram yang digunakan memiliki ukuran 6mm.

Masing-masing isolat bakteri yang berhasil dipurifikasi selanjutnya diinokulasikan kedalam air laut sebanyak 5ml pada tabung reaksi untuk disamakan standar kekeruhannya dengan larutan mc farland 0,5. Isolat bakteri kemudian diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu ruang. selanjutnya isolat bakteri simbion diteteskan pada kertas cakram sebanyak 20 μ L lalu diletakkan pada cawan petri berisi media *Zobell Marine Agar 2216* yang telah diinokulasikan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*. Pengamatan zona hambat dilakukan 24 jam dan 48 jam.

Berdasarkan hasil pengamatan 24 jam diketahui dari delapan isolat terdapat dua isolat yang tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Isolat tersebut adalah kode AB dan AF. Sedangkan enam isolat lainnya menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan ditandai terbentuknya zona hambat disekitar kertas cakram. Pada kode isolat AA dapat diketahui memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 0,83 mm. Kemudian untuk kode isolat AC sebesar 0,55 mm. sedangkan kode isolat AD merupakan isolat dengan zona hambat yang paling luas dibanding isolat lain yaitu sebesar 1,35 mm. Kode isolat AE dapat membentuk rata-rata diameter zona hambat sebesar 0,87 mm. Kode isolat AG sebesar 0,55 mm dan kode isolat AH dengan rata-rata diameter sebesar 0,68 mm.

Hasil uji potensi antibakteri simbion spons *Agelas cervicornis* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* pada pengamatan 24 jam seluruh isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri dengan rata-rata diameter zona hambat yang bervariasi. Perbedaan zona hambat yang terbentuk dari keenam isolat dapat disebabkan oleh perbedaan jenis dan kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri dari masing-masing isolate (Kusumawati *et al.*, 2014). Kode isolat

tersebut adalah AA, AC, AD, AE, AG dan AH dikategorikan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder dengan daya hambat yang lemah.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat pada pengamatan 48 jam terlihat kode isolat AB dan AF tetap tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Sedangkan kode isolat lain menunjukkan aktivitas antibakteri dengan bertambahnya luas diameter zona hambat dibandingkan pada pengamatan 24 jam. Kode isolat AA terlihat dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 5,03 mm. Selanjutnya untuk kode isolat AC sebesar 1,62 mm. Kode isolat AD dengan rata-rata diameter sebesar 2,03 mm. Kode isolat AE memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 1,85 mm. Sedangkan kode isolat AG dapat membentuk rata-rata diameter sebesar 1,77 mm dan kode isolat AH sebesar 1,93 mm.

Pada pengujian ini dari keenam isolat yang menunjukkan adanya zona hambat disekitar kertas cakram, hanya terdapat satu isolat yang tergolong memiliki senyawa metabolit sekunder dengan kriteria daya hambat sedang yaitu dimiliki oleh kode isolat AA. Sedangkan lima isolat lain tergolong dalam kategori daya hambat lemah. Setiap bakteri memiliki fase pertumbuhan yang berbeda-beda sehingga mengakibatkan perbedaan diameter zona hambat dari masing-masing isolat. Menurut Pambudi *et al.*, (2021) fase stasioner menuju kematian bagi bakteri merupakan waktu yang tepat untuk memproduksi metabolit sekunder sehingga proses penghambatan bakteri uji akan berjalan secara maksimal. Berdasarkan penelitiannya, metabolit sekunder pada jam ke 38 sedang diproduksi secara besar besaran dibanding pada jam lainnya.

Data pengamatan zona hambat 24 jam dan 48 jam pada uji potensi antibakteri simbiosis spon *Agelas cervicornis* terhadap *Staphylococcus aureus* dilanjutkan dengan pengkategorian sifat antibakteri. Berdasarkan hasil pengamatan simbiosis spon *Agelas cervicornis* dengan kode AA, AC, AD, AE, AG dan AH tergolong bersifat bakteriosidal karena dapat mencegah pertumbuhan dan menyebabkan kematian sel mikroba. Sedangkan kode AB dan AF tidak memiliki sifat antibakteri.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian uji antibakteri ekstrak spons *Agelas cervicornis* dan bakteri asosiasinya dari Perairan Wisata Kampung Kerapu Kabupaten Situbondo terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dapat disimpulkan :

1. Ekstrak spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu memiliki potensi antibakteri terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* ditandai dengan munculnya zona hambat di sekitar kertas cakram. Konsentrasi 0,5 mg/ml ; 1 mg/ml dan 1,5 mg/ml menunjukkan aktivitas antibakteri dengan kategori daya hambat lemah.
2. Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu adalah golongan flavonoid, alkaloid dan terpenoid.
3. Uji Antagonis bakteri asosiasi spons *Agelas cervicornis* dari Perairan Wisata Kampung Kerapu berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan enam isolat menunjukkan adanya aktivitas antibakteri meskipun dua lainnya tidak menunjukkan aktivitas antibakteri.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, penulis berharap penelitian selanjutnya dapat mengembangkan penelitian mengenai uji ekstrak spons *Agelas cervicornis* dan bakteri asosiasinya terhadap bakteri patogen lain, melakukan uji fitokimia secara kuantitatif, uji kadar terendah ekstrak spons *Agelas cervicornis* dan bakteri asosiasinya yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri patogen serta uji anova dengan menggunakan jarak antara konsentrasi satu dengan yang lain cukup jauh agar mendapatkan hasil adanya perubahan zona hambat yang signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, R. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*) dan Gambir (*Uncaria gambir Roxb*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Gastrointestinal Endoscopy*, 10(1), 279–288.
- Adnyana, G. A. B. S., Gunam, I. B. W., & Anggreni, A. A. M. D. (2016). Penentuan Suhu Dan Sumber Karbon Terbaik Pada Pertumbuhan Isolat Sbj8 Dalam Biodesulfurisasi Dibenzotiofena. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 4(4), 43–48.
- Afifi, C., & Sugiarti, L. (2016). Analisis Mikrobiologis Jamu Tujuh Angin dan Sari Asih PT. Jamu Air Mancur Surakarta dengan Metode ALT dan AKK. *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan Masyarakat*, 1(5), 65–71.
- Afriani, N., Idiawati, N., & Alimuddin, A. H. (2016). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) terhadap Larva *Artemia salina*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(1), 58–64.
- Agustina, E. (2017). Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Daun Tiin (*Ficus Carica Linn*) Dengan Pelarut Air, Metanol Dan Campuran Metanol-Air. *Klorofil : Jurnal Ilmu Biologi Dan Terapan*, 1(1), 38–47.
- Angin, Y., Purwaningrum, Y., Asbur, Y., Rahayu, M. S., & Nurhayati, N. (2019). Pemanfaatan kandungan metabolit sekunder yanag dihasilkan tanaman pada cekaman biotik. *AgriLand : Jurnal Ilmu Pertanian*, 7(1), 39–47.
- Apriliani, R. T., Wirawan, I. G. P., & Adiartayasa, W. (2020). Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of Purnajiwa Fruit Extract (*Euchresta horsfieldii* (Lesch.) Benn.). *International Journal of Biosciences and Biotechnology*, 8(1), 31.
- Arif, R. S., & Tukiran, T. (2015). Identifikasi senyawa fenolik hasil isolasi dari fraksi semi polar ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*). *UNESA Journal of Chemistry*, 4(2), 105–110.
- Arifuddin. (2013). Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun dari Kepulauan Spermonde

- Kota Makassar Terhadap *Artemia salina* (Linnaeus , 1758). *Jurnal Ilmu Kelautan*.
- Aristyawan, A. D., Sugijanto, N. E., & Suciati, S. (2018). Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(1), 39.
- Arivo, D., & Annissatussoleha, N. (2017). Pengaruh Tekanan Osmotik pH dan Suhu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(3), 55–56.
- Arum, Y. P., Supartono, & Sudarmin. (2012). Isolasi Dan Uji Antimikroba Ekstrak Daun Kersen. *Jurnal Mipa*, 35(02), 157–164.
- Ayu Risky, T. (2014). Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku *Adiantum Philippensis L.* Antioxidant and Anticancer Activities of Methanol Extract of the *Adiantum Philippensis L. Fern.* *Unesa Journal of Chemistry*, 3(Vol 3, No 1 (2014): Volume 3, Number 1, 2014), 89–95.
- Buldani, A., Yulianti, R., & Soedomo, P. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Vibrio Cholerae* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro Dengan Metode Difusi Cakram Ahmad. *2nd Seminar Nasional IPTEK Terapan (SENIT) 2017*, 15–17.
- Bulele, T., Rares, F. E. S., & Porotu'o, J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 7(1), 30–36.
- Cahayanti, I. A. P. A. M. W. L. P. W. (2016). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Karakteristik Pewarna Alami Buah Pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekayasa Dan /Manajemen Agroindustri*, 4(2252), 32–41.
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering improved accuracy. *Applied Microbiology*, 22(4), 666–670.
- Dewatisari, W. F., Rumiyantri, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan

- Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197.
- Dewi, A. K. (2016). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner*, 31(2), 138–150.
- Dewi, S. R., Argo, B. D., & Ulya, N. (2018). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1–10.
- Dhuha, S., Bodhi, W., & Kojong, N. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*, 5(1), 231–237.
- Dian, R., . F., & Budiarmo, F. (2015). Uji Resistensi Bakteri *Escherichia Coli* Yang Diisolasi Dari Plak Gigi Terhadap Merkuri Dan Antibiotik Kloramfenikol. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1).
- Ebada, S. S., & Proksch, P. (2012). *The Chemistry of Marine Sponges* *. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3834-0>
- Era, S. Y., Eka, L., & Widjaja, I. N. K. (2012). Pengaruh variasi kepolaran fase gerak aseton-diklorometana: metanol-asam asetat terhadap % distribusi (+)-Katekin dari Gambir dengan metode kromatografi cair vakum. *J Farmasi Udayana*, 1(1), 31–38.
- Erlyani. (2012). Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Tandan Bunga Jantan Enau (*Arenga pinnata Merr.*). *Jurnal MIPA*, 1–12.
- Fajrina, A., Dinni, D., Bakhtra, A., & Irenda, Y. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Spons *Aplysina aerophoba* Pada *Helicobacter pylori* dan *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Higea*, 10(2), 134–142.
- Ginting, E. L., Rangan, L., Wantania, L. L., & Wullur, S. (2019). Isolation of Symbiotic Bacteria with Red Algae from Tongkaina Waters, North Sulawesi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(2), 395.

- Gultom, E. S. (2014). *Aktivitas Ekstrak Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Haliclona sp2. dan Axinellid sp. Sebagai Antibakteri.*
- Haedar, Haedar, Sadarun, Baru, Palupi, Diyah, & Ratna. (2016). Potensi Keanekaragaman Jenis Dan Sebaran Spons Di Perairan Pulau Saponda Laut Kabupaten Konawe. *Jurnal Sapa Laut (Jurnal Ilmu Kelautan)*, 1(1), 1–9.
- Hafsan, Sukmawaty, E., & Masri, M. (2016). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi.*
- Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Akbar Ashkarran, A., Jimenez de Aberasturi, D., Larramendi, I. R. de, Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W. J., & Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 499–511.
- Hamdiyati, Y. (2016). Pertumbuhan dan Pengendalian Mikroorganisme II. *Jurnal Pendidikan Biologi.*
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. Coli* dan *S.aureus*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1(2)(2), 11–21.
- Haryati, S. D., Darmawati, S., & Wilson, W. (2017). Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana Mill*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang, September*, 348–352.
- Hasrianti, Nururrahmah, & Nurasia. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami Bakso. *Jurnal Dinamika*, 07(1), 9–30.
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Peranakan Etawah Penderita Mastitis Subklinis di Kelurahan Kalipuro, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76.
- Holderman, M. V., De Queljoe, E., & Rondonuwu, S. B. (2017). Identifikasi Bakteri Pada Pegangan Eskalator Di Salah Satu Pusat Perbelanjaan Di Kota

- Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 13.
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Islamiyah, A. (2019). Parameter Spesifik Ekstrak Etanol 70% Daun Matoa (*Pometia pinnata J.R Forst & G. Forst*) Hasil Maserasi. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*.
- Ismet, M. S. (2007). Penapisan Senyawa Bioaktif Spons *Aaptos aaptos* dan *Petrosia sp.* dari Lokasi yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan*, 3(2), 153–161.
- Isnaeni, D., & Rahmawati. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Mikrosimbion dari Spons *Callyspongia vaginalis* dan Uji Daya Hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Majalah Farmasi Nasional*, 13(2), 8–19.
- Istini, I. (2020). Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(3), 41.
- Jannah, R., Safika, Jalaluddin, M., Darmawi, Farida, & Aliza, D. (2017). Jumlah Koloni Bakteri Selulotik pada Sekum Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *Jimvet*, 01(3), 558–565.
- Jawa, T. (2016). Uji Daya Hambat Antibakteri Ekstrak Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Pembentuk Karies Gigi *Streptococcus mutans*. *Jurnal Biologi Tropis*, 1–65.
- Jawetz, Melinick, & Aldeberg. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran*. 23, 251–257.
- Judianti, O. W. D., Fiqri, M. M., Trimulyono, G., & Ketintang, J. (2014). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Demospongiae* dari Pantai Paciran Lamongan. *Sains & Matematika*, 2(2), 49–53.
- Jun Chu, M., Li, M., Ma, H., Lin Li, P., & Qiang Li, G. (2022). Secondary metabolites from marine sponges of the genus *Agelas*: a comprehensive update insight on structural diversity and bioactivity. *Royal Society of*

Chemistry, 7789–7820.

- Karmila. (2016). Daya Hambat Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Diare. *Jurnal Biologi Tropis*.
- Katrin, D., Idiawati, N., & Sitorus, B. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea graciae*. *Jkk*, 4(1), 7–12. <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/viewFile/11720/110>
- Kepel, B. J., Bodhi, W., & Fatimawali, . (2020). Pengaruh pH dan Suhu terhadap Aktivitas Pereduksi Merkuri Bakteri Resisten Merkuri Tinggi *Bacillus cereus* yang Diisolasi dari Urin Pasien dengan Amalgam Gigi. *E-GiGi*, 8(1), 15–21.
- Kurama, G., Maarisit, W., Karundeng, E., & Potalangi, N. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung (*Dendrophloe sp*) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 3(2), 27–33.
- Kurniawan, M., Sapar, A., & Aritonang, A. (2021). Uji Toksisitas dan Uji Fitokimia Spons *Haliclona sp*. Asal Pulau Lemukutan Kabupaten Bengkayang Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 9(1), 1–5.
- Kusumawati, D. E., Pasaribu, F. H., & Bintang, M. (2014). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit dari Tanaman Miana (*Coleus scutellarioides [L.] Benth.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry*, 1(1), 45–50.
- Lake, W. K., Hamid, I. S., Saputro, A. L., Plumeriastuti, H., Yustinasari, L. R., & Yunita, M. N. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak n-Heksana dan Kloroform Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 60.
- Liempepas, 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.
- Mhya, D., & Mankilik, M. (2014). Phytochemical Screening of Aqueous Extract of *Luffa aegyptiaca* (Sponge gourd) Leave Sample from Northern Nigeria : A Short Communication. *International Journal of Pharma Sciences and*

Research, 5(7), 344–345.

- Misna, M., & Diana, K. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 2(2), 138–144.
- Muharrami, L. K., Munawaroh, F., Ersam, T., & Santoso, M. (2020). Phytochemical Screening of Ethanolic Extract : Preliminary Test on Five Medicinal Plants on Bangkalan. *Jurnal Pena Sains*, 7(2), 96–102.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, VII(2), 361.
- Novitasari, A. E., & Putri, D. Z. (2016). Isolasi dan Identifikasi Saponin pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains*, 6(12), 10–14.
- Nugroho, R. P., Budiharjo, A., & Kusdiyantini, E. (2015). Bioprospeksi dan Identifikasi Molekuler Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga Hijau sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Bioprospecting and Molecular-Based Identification of Green Algae - Associated Bacteria as an Antibacterial Compound Producer. *Seminar Nasional Konservasi Dan Pemanfaatan Sumberdaya Alam*, 1(1), 50–54.
- Nur, R. M., & Rahmawati. (2019). Kombinasi Uji Aktivitas Antifouling (*Rhizophora apiculata*) di Kabupaten Pulau Morotai. *Jurnal Ilmu Ilmu Perikanan Dan Budidaya Perairan*, 4(1), 1–23.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, & Ghazali, M. (2015). Deteksi akteri atogen yang berasosiasi dengan Kappaphycus. *Jurnal Sains Teknologi Dan Lingkungan*, 1(2), 24–30.
- Nurmalasari, F., Annisa, N. N., Septiani, I., & Nugraheni, G. (2016). Optimasi Waktu Maserasi untuk Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Rind Menggunakan Pelarut Etil Asetat. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 3(1), 12–16.
- O' Halloran, J. A., Barbosa, T. M., Morrissey, J. P., Kennedy, J., O' Gara, F., &

- Dobson, A. D. W. (2011). Diversity and antimicrobial activity of *Pseudovibrio* spp. from Irish marine sponges. *Journal of Applied Microbiology*, 110(6), 1495–1508.
- Ode, M. F., Ramli, M., & Sahidin. (2019). Kajian bioaktivitas antibakteri dan senyawa metabolit sekunder spons laut *Haliclona* sp., dari perairan Tanjung. *Sapa Laut*, 4(1), 13–22.
- Oktavia, G. A. E., Ibrahim, M., & Lisdiana, L. (2013). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram The Effect of Ethanolic Extract of Mahogany (*Swietenia mahogani*) Seeds on Growth Inhibition of Escherichi. *Jurnal Lentera Bio*, 2(3), 239–243.
- Opa, S., Bara, R., Gerung, G., Rompas, R., Lintang, R., & Sumilat, D. (2018). Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana, metanol dan air dari ascidian *Lissoclinum* sp. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 6(1), 69.
- Pambudi, A. R., Wasiaturrahmah, Y., & Aspriyanto, D. (2021). Antibacterial Effectiveness of Kecapi Sentul Extract (*Sandoricum Koetjape Merr.*) Against *Streptococcus mutans*. *ODONTO Dental Journal*, 8(2), 1–10.
- Parra-velandia, F. J., Zea, S., & Soest, R. O. B. W. M. V. A. N. (2014). Reef sponges of the genus *Agelas* (Porifera: Demospongiae) from the Greater Caribbean. *Zootaxa*, 3794(3), 301–343.
- Pastra, D. A., & Surbakti, H. (2012). *Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis Aplysina sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung*. 04, 77–82.
- Prasetyo, A. D., & Sasongko, H. (2014). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Bacillus subtilis* Sebagai Materi Pelajaran Biologi SMA Kelas X untuk Mencapai Kompetensi Dasar 3.4 Kurikulum 2013. *Jupemasi-Pbio*, 1(1), 98–102.
- Prawirodihardjo, E. (2014). Uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas ekstrak

- etanol 70% dan ekstrak air laut batang kayu jawa (*lannea coromandelica*). *Jurnal Kedokteran*, 39.
- Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. (2019). Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema Reticulatum Br .*) Pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 111–121.
- Prayudo, A. N., Novian, O., Setyadi, & Antaresti. (2015). Koefisien Transfer Massa Kurkumin dari Temulawak. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, 14, 26–31.
- Puspitasari, F. D., Shovitri, M., & Kuswyasari, N. D. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 1(1), 1–4.
- Putri, D. A. (2014). Pengaruh Metode Ekstraksi dan Konsentrasi terhadap Aktivitas Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*, 46.
- Putri, W., Warditiani, N., & Larasanty, L. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L .*). *Jurnal Kimia*, 2(1).
- Radji. (2011). Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. *Buku Kedokteran EGC*, II, 19–20.
- Rahayu, D. S., Kusrini, D., & Fachriyah, E. (2006). Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). *Jurnal Jurusan Kimia FMIPA*, 1–10.
- Ramdani, D., Majuki, M., & Chuzaemi, S. (2017). Pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) pada pakan terhadap viabilitas protozoa dan produksi gas in-vitro. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 27(2), 54–62.
- Retnowati, Y., Bialangi, N., & Posagi, N. W. (2011). Pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*, 6(2), 397–405.

- Ritan, Y. E. H., Wewengkang, D. S., & Siampa, J. P. (2021). Uji Aktivitas Aantibakteri Ekstrak dan Fraksi Alga *Caulerpa racemosa* dari Perairan Pulau Mantehage Minahasa Utara Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 10(2), 905.
- Roreng, M. K., Parubak, A., Rahman, A., Kimia, P., Keguruan, F., & Papua, U. (2021). Uji Aktivitas Antimalaria dari Spons *Xestospongia sp* . Asal Pulau Yapen secara *In Vivo*. 24(2), 177–184.
- Sabbathini, G. C., Pujiyanto, S., Wijanarka, & Lisdiyanti, P. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Genus *Sphingomonas* dari Daun Padi (*Oryza sativa*) di Area Persawahan Cibinong. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(1), 59–64.
- Sabir, A. (2005). Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona sp* terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro) (In vitro antibacterial activity of flavonoids *Trigona sp* propolis against *Streptococcus mutans*). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 38(3), 135.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., & Simbala, H. E. I. (2008). Analisa Fitokimia Obat Di Minahasa Utara. *Chemistry Progres*, 1(1), 47–53.
- Sapara, T. U., & Waworuntu, O. (2016). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. 5(4), 10–17.
- Sari, R., & Prayudyaningsih, R. (2017). Karakter Isolat Rhizobia Dari Tanah Bekas Tambang Nikel Dalam Memanfaatkan Oksigen Untuk Proses Metabolismenya. *J. Teknis Eboni*, 14(2), 123–136.
- Sasongko, P., Mushollaeni dan Herman, W., Studi Teknologi Industri Pertanian, P., & Pertanian, F. (2014). Aktivitas Antibakteri Asap Cair Dari Limbah Tempurung Kelapa Terhadap Daging Kelinci Asap. *Buana Sains*, 14(2), 193–197.
- Savitri, I., Suhendra, L., Made Wartini, N., Jurusan Teknologi Industri Pertanian, M., Teknologi Pertanian Unud, F., & Jurusan Teknologi Industri Pertanian, D. (2017). Pengaruh Jenis Pelarut pada Metode Maserasi Terhadap Karakteristik

- Ekstrak *Sargassum polycystum*. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 93–101.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9.
- Setyati, W. A., Habibi, A. S., Subagiyo, S., Ridlo, A., S, N., & Pramesti, R. (2016). Skrining Dan Seleksi Bakteri Symbion Spons Penghasil Enzim Ekstraseluler Sebagai Agen Bioremediasi Bahan Organik Dan Biokontrol Vibriosis Pada Budidaya Udang. *Jurnal Kelautan Tropis*, 19(1), 11.
- Sinurat, A. A. P., Renta, P. P., Herliany, N. E., Negara, B. F., & Purnama, D. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut *Gracilaria edulis* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Enggano*, 4(1), 105–114.
- Situmorang, A. (2019). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Symbion Spons yang Berpotensi Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Multi Drug Resistant Organism (MDRO) dengan Penanda Gen 16S RRNA*. 55.
- Subagiyo, S., Margino, S., Triyanto, T., & Ari Setyati, W. A. (2015). Effects Of pH, Temperature And Salinity In Growth And Organic Acid Production Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Penaeid Shrimp Intestine. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 20(4), 187.
- Sukara, E., Ambarsari, H., & Hartono, A. (2019). Pengaruh Konsentrasi Nitrat dan Konsentrasi Isolat Sedimen Kolam Ikan Lele (*Clarias sp.*) Pada Proses Denitrifikasi. *Biodidaktika, Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, 14(1), 22–28.
- Sumarni, N. K., Rahmawati, Syamsuddin, & Ruslan. (2019). Daya hambat ekstrak etanol sabut kelapa (*Cocos nucifera Linn*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada tahu. *Jurnal Kimia*, 17(1), 45–51.
- Suryanto, E., & Wehantouw, F. (2009). Aktivitas penangkap radikal bebas dari ekstrak fenolik daun sukun (*Artocarpus altilis F.*). *Chemistry Progress*, 2(1),

1–7.

- Syafitri, N. E., Bintang, M., & Falah, S. (2014). Current Biochemistry CURRENT BIOCHEMISTRY Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine D. Don*). *Current Biochemistry*, 1(3), 105–115.
- Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., & Wagner, M. (2007). Sponge-Associated Microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(2), 295–347.
- Tiwari, P., Jain, R., Kumar, K., Panik, R., & Sahu, P. K. (2011). An evaluation of antimicrobial activities of root extract of *Calendula officinalis*(LINN.). *Newsletter*, 892, 886–892.
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia Lam.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136–143.
- Tuntun, M., & Huda, M. (2014). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Poltekkes-Tjk*, 3(1), 297–304.
- Undap, N. I. J., Sumilat, D. A., & Bara, R. (2017). *Antibacterial substances of sponges, Agelas tubulata and Phyllospongia sp ., from Manado Bay , against the growth of several bacterial strains*. 5(1), 23–28.
- Utami, T., Komang, N., Trianto, A., & Ocky, R. K. (2016). Skrining Senyawa Antibakteri Ekstrak Spons Dari Perairan Kupang , Nusa Tenggara Timur. *Prosiding Seminar Nasional Tahunan Ke-V Hasil-Hasil Penelitian Perikanan Dan Kelautan E*, 500–510.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Antibacterial Activity Test of the C-4-methoxyphenylcalix[4]resorcinarene Compound Modified by Hexadecyltrimethylammonium-Bromide against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan*

Kimia), 3(3), 201.

- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon (Linn.)* Burm F.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213.
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa B.*). *Prosiding Seminar Nasional Unimus, 1*, 8–14.
- Wantania, L. L., Ginting, E. L., & Wullur, S. (2016). Isolasi Bakteri Simbion Dengan Spons Dari Perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains Dan Teknologi*, 3(1), 57–65.
- Wardhani, A. K., Uktolseja, J. L. ., & Djohan. (2020). Identifikasi Morfologi Dan Pertumbuhan Bakteri Pada Cairan Terfermentasi Silase Pakan Ikan. *Seminar Nasional Pendidikan Biologi Dan Saintek (SNPBS) Ke-V, p-ISSN: 2527-533X*, 411–419.
- Yuliani, I., Ardana, M., & Rahmawati, D. (2017). Pengaruh pH Terhadap Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda*, 6(November), 7–8.
- Yulianti, M. (2012). *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Salam (Syzgium polyanthum (Weight) Walp.) Terhadap Beberapa Mikroba Patogen secara KLT-Bioautografi.*
- Zulharmitta, Elrika, D., & Rivai, H. (2010). *Penentuan Pengaruh Jenis Pelarut Ekstraksi Terhadap Perolehan Kadar Senyawa Fenolat dan Daya Antioksidan dari Herba Miniran (Phyllanthus niruri L.)*. 2(1), 37–45.