

SKRINING SENYAWA ANTIBAKTERI EKSTRAK SPONS DARI PERAIRAN KUPANG, NUSA TENGGARA TIMUR

Ni Komang Tri Utami^{*)}, AgusTrianto, Ocky Karna Radjasa

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
KampusTembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698

*Penulis korespondensi: nikomang_trituti@yahoo.com

ABSTRAK

Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang resisten terhadap antibiotik atau disebut *Multi Drugs Resistance* (MDR). Bakteri tersebut menimbulkan berbagai penyakit pada manusia dan hewan. Eksplorasi dan pengembangan sumber antibiotik baru sangat diperlukan, salah satunya yang berasal dari spons laut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak spons dari Perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur yang memiliki potensi antibakteri tertinggi, serta mampu mengetahui jenis spons. Penelitian ini menggunakan cara ekstraksi dengan maserasi kemudian ekstrak diuji terhadap bakteri patogen. Ekstrak dengan zona hambat terbaik difraksinasi dengan *separator funnel* dan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT), kemudian diuji kembali aktivitas antibakterinya. Maserasi menghasilkan ekstrak kasar spons sebesar 0,48 % sampai dengan 5,19 %. Uji pendahuluan terhadap bakteri patogen menggunakan metode difusi agar menunjukkan bahwa spons K14-52 memiliki potensi antibakteri paling tinggi dengan zona hambat sebesar $10,43 \pm 0,26$ mm terhadap bakteri *E. coli* dan $9,38 \pm 0,57$ mm terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 500 µg/disk. Fraksinasi ekstrak dengan Kromatografi Kolom Terbuka (KKT) menghasilkan empat fraksi dan diuji aktivitas antibakterinya pada konsentrasi 100 µg/disk, 50 µg/disk, dan 25 µg/disk. Fraksi 2 menghasilkan zona hambat tertinggi sebesar $10,9 \pm 0,02$ mm terhadap bakteri *E. coli* dan $9,62 \pm 0,31$ mm terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 100 µg/disk. Visualisasi KLT menggunakan Vanilin asam sulfat dan Ninhydrin menunjukkan bahwa fraksi 2 mengandung golongan senyawa asam lemak dan alkaloid. Identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa spons K14-52 masuk dalam kelas Demospongia, dengan spesies *Rhabdastrella globostellata*. Spons tersebut memiliki makrosklera monoaxon spikula (*Hastate oxea*, *Centrotylote oxea*, *Fusiform oxea*) dan mikrosklera tetraxon spikula *Oxyaster*.

Kata Kunci : Antibakteri, Spons, Difusi agar, Identifikasi Spons.

PENDAHULUAN

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan contoh bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik. *Multi Drugs Resistance* (MDR) adalah suatu istilah bagi suatu bakteri yang resisten terhadap lebih dari 3 (tiga) antibiotik (Satari, 2012). Salah satu permasalahan yang sering timbul akibat bakteri *E. coli* MDR yaitu penyakit pada unggas. Selain itu bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menyebabkan berbagai penyakit pada manusia. Untuk menanggulangi hal tersebut maka perlu dilakukan eksplorasi dan pengembangan terhadap berbagai sumber antibiotik misalnya bahan bioaktif dari spons laut. Spons merupakan invertebrata laut yang memiliki senyawa bioaktif tinggi yang digunakan sebagai sistem

pertahanan diri. Senyawa bioaktif spons dihasilkan oleh metabolit sekunder yang dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan, misalnya antibakteri, antitumor, antikanker, antijamur, anti-inflamatori, sitotoksik, antimikroba, antivirus, antimalaria, antifauling, dan immunosupresif (Lee *et al.*, 2001; Aktas *et al.*, 2010). Spons memiliki potensi senyawa bioaktif terbesar di antara invertebrata laut lainnya (Ginting *et al.*, 2010; Romimohtarto, 2001), sekitar 45% senyawa bioaktif laut ditemukan pada spons (Suriani *et al.*, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak spons dari Perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur yang memiliki potensi tertinggi sebagai bahan antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* serta jenis spons yang memiliki potensi antibakteri tertinggi dengan mengidentifikasi secara makroskopis melalui pengamatan morfologi dan secara mikroskopis melalui pengamatan bentuk spikula spons.

BAHAN DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah beberapa jenis spons yang diperoleh dari perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur. Spons yang telah diambil kemudian diidentifikasi jenisnya dan kemudian dilakukan pengujian untuk aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* pada media Zobell 2216E. Bakteri ini diperoleh dari Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, Semarang.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel spons menggunakan metode maserasi dengan melakukan perendaman sampel dalam yang sebelumnya telah dibersihkan dan dipotong – potong kecil, menggunakan larutan metanol teknis dengan perbandingan sampel dan pelarut yaitu 1:3 atau hingga sampel terendam sempurna selama 24 jam hingga 48 jam pada suhu ruangan. Hasil ekstaksi tersebut disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 37 °C untuk mendapatkan ekstrak sampel dalam bentuk pasta maupun setengah pasta.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dilakukan secara kualitatif dengan mengambil sampel pengenceran ekstrak spons dengan berbagai konsentrasi (Valgas *et al.*, 2007). Sebelum dilakukan uji, bakteri uji terlebih dahulu dikultur dalam media Zobell cair selama 2x24 jam. Uji pendahuluan antibakteri pada 11 sampel ekstrak kasar spons terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* pada konsentrasi 500 µg/disk, 250 µg/disk, 100 µg/disk, dan 50 µg/disk.

Masukkan 100 µl bakteri uji pada media dalam cawan petri kemudian ditunggu selama 30 menit hingga bakteri berdifusi. Ekstrak yang telah diencerkan kemudian diteteskan pada paper disk dengan masing-masing 2 kali ulangan tiap konsentrasi. Cawan petri dibungkus menggunakan plastik *wrap* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 1x24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter hambatan yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan mm (Tinambunan *et al.*, 2012). Ekstrak yang membentuk zona hambat tertinggi dilanjutkan pada tahap penelitian selanjutnya yaitu fraksinasi senyawa dan identifikasi jenis spons.

Separatory Funnel

Ekstrak yang digunakan yaitu ekstrak yang telah membentuk zona hambat tertinggi yaitu sampel spons K14-52. Sebesar 1,16 gr ekstrak kasar sampel K14-52 dilarutkan ke dalam pelarut etil asetat teknis dan dimasukkan ke dalam corong pemisah dan ditambahkan air dan pelarut etil asetat teknis dengan perbandingan yaitu 1:3 (Rumengan dan Mangindaan, 2013). Hasil pemisahan larutan ditampung dalam labu *erlenmeyer* yang berbeda dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Fraksi etil asetat diuapkan pada suhu 35 °C dan 60 °C untuk fraksi air. Kedua ekstrak fraksi etil asetat dan fraksi air kemudian diuji kembali aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan metode difusi agar pada konsentrasi ekstrak 250 µg/disk, 100 µg/disk, 50 µg/disk, dan 25 µg/disk. Apabila fraksi dapat membentuk zona hambat akan dilanjutkan pada tahapan selanjutnya yaitu fraksinasi senyawa.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk mengetahui golongan senyawa maupun penggolongan senyawa pada ekstrak (Hayati *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini, KLT terhadap fraksi etil asetat digunakan untuk menentukan eluen yang akan digunakan dalam Kromatografi Kolom Terbuka (KKT) berdasarkan pemisahan senyawa pada plat KLT dan nilai Rf yang terbentuk, sedangkan KLT selanjutnya digunakan untuk mengetahui golongan senyawa. Fraksi etil asetat ditotolkan pada plat KLT berukuran 1 cm x 6 cm, pada masing-masing ujung plat diberi garis pembatas berukuran 0,5 cm sehingga total jarak tempuh adalah 5 cm. Sebelum penotolan fraksi, pengembang dipersiapkan dalam *beaker glass* yaitu berupa campuran pelarut etil asetat pa dan n-heksan pa dengan perbandingan 1:1, 1:3, dan 1:5, serta campuran pelarut etil asetat pa dengan kloroform pa dengan perbandingan 1:3, 1:4,

1:5, dan 5:1. Fraksi etil asetat diambil dan ditotolkan pada garis awal plat KLT menggunakan pipet kapiler kemudian dimasukkan ke dalam gelas breaker yang telah berisi pengembang dan ditutup menggunakan aluminium foil. Plat divisualisasi dengan disemprot larutan Vanilin asam sulfat dan dikeringkan diatas *hot plate*.

Kromatografi Kolom Terbuka (KKT)

Kromatografi kolom terbuka menggunakan eluen etil asetat pa dan kloroform pa dengan perbandingan 1:3 yang disesuaikan dengan hasil dari kromatografi lapis tipis sebagai fase gerak. Sedangkan fase diam menggunakan silika gel 60 (0,2–0,5 mm) seberat 8 gram. Pada bagian bawah kolom dimasukkan bulatan kapas yang digunakan untuk menyangga silika gel. Sebanyak 330,6 mg fraksi etil asetat dilarutkan dalam pelarut kloroform pa, kemudian dimasukkan secara perlahan ke dalam kolom menggunakan *pasteur pipet*. Larutan ditampung dalam flask kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Tiap fraksi dianalisis golongan senyawanya menggunakan kromatografi lapis tipis.

Plat KLT yang digunakan berukuran 4 cm (lebar) dan tinggi 6 cm, pengembang yang digunakan adalah etil asetat pa dan *kloroform* pa dengan perbandingan 1:3 sebanyak 2 ml. Tiap fraksi ditotolkan pada garis batas awal plat KLT secara berurutan dalam satu plat kemudian dimasukkan dalam gelas beaker dan ditutup dengan aluminium foil. Visualisasi plat dengan menyemprotkan larutan Vanilin asam sulfat dan dipansakan pada suhu 120 °C dan suhu 110 °C pada visualisasi menggunakan Ninhydrin (Touchstone and Murrell, 1983). Tandai spot yang terbentuk pada plat KLT dan dihitung nilai Rf-nya.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji utama aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak keempat fraksi hasil kromatografi kolom terbuka pada konsentrasi 100 µg/disk, 50 µg/disk, dan 25 µg/disk serta dengan kontrol positif menggunakan antibakteri kloramfenikol 10 µg/disk dan kontrol negatif menggunakan pelarut etil asetat pa 10 µl/disk. Masing-masing konsentrasi diuji dengan dua kali ulangan. Pengamatan zona hambat dilakukan pada jam ke-24 dan ke-48.

Identifikasi Spons

Identifikasi jenis spons dilakukan pada spons yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi. Identifikasi spons dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi spons secara makroskopis dengan melihat bentuk luar tubuh spons, ukuran, oskula, konsistensi, permukaan

tubuh dan warna spons (Hooper, 2003; Uriz *et al.*, 2003). Sedangkan secara mikroskopis melalui identifikasi bentuk spikula spons dengan menggunakan mikroskop (Amir dan Budiyanto, 1996). Preparat disiapkan dengan melarutkan sampel pada sodium hypoklorit dalam eppendof. Materi di bilas menggunakan aquades 2-3 kali, selanjutnya spikula yang telah bersih diambil menggunakan pipet dan diratakan dalam kaca preparat dan dilanjutkan dengan melakukan pengamatan (Khoshkhoo *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Proses ekstraksi pada penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan ekstrak kasar serta Rendemen ekstrak tertinggi dihasilkan oleh sampel spons dengan kode K14-52 yaitu sebesar 5,19 % dari berat basah sampel sebesar 22,36 gram. Sedangkan yang rendaman ekstrak terendah dihasilkan oleh sampel spons dengan kode K14-35 yaitu sebesar 0,48 % dari berat basah sampel sebesar 47,60 gram.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antibakteri

Uji pendahuluan ini bertujuan untuk mengetahui dan menyeleksi ekstrak kasar sampel spons yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, dimana ekstrak yang dapat membentuk zona hambat tertinggi akan dilanjutkan pada tahap fraksinasi senyawa. Hasil pengamatan zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak kasar sampel spons K14-52 memiliki zona hambat yang paling besar dengan diameter zona hambat mencapai $10,43 \pm 0,26$ mm pada konsentrasi 500 $\mu\text{g}/\text{disk}$ terhadap bakteri *E. coli* dan $9,38 \pm 0,57$ mm terhadap bakteri *S. aureus*.

Separatory Funnel

Separatory Funnel menghasilkan ekstrak fraksi etil asetat sebesar 330,6 mg dan fraksi air sebesar 732,6 mg. Fraksi etil asetat berwarna kuning bening dan fraksi air berwarna kuning pekat. Kepekatan warna pada kedua fraksi dapat menunjukkan banyaknya senyawa yang terkandung di dalam fraksi. Fraksi air memiliki warna yang lebih pekat mengindikasikan bahwa kandungan senyawanya lebih besar, diduga bahwa sebagian besar senyawa yang terkandung dalam ekstrak spons K14-52 merupakan senyawa polar sehingga lebih mudah larut ke dalam pelarut polar. Hasil uji antibakteri fraksi etil asetat dan fraksi air terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki potensi antibakteri sedangkan fraksi air tidak. Zona hambat tertinggi sebesar $10,38 \pm 0,21$ mm terhadap bakteri *E. coli* dan $12,23 \pm 0,14$ terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 250 µg/disk.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

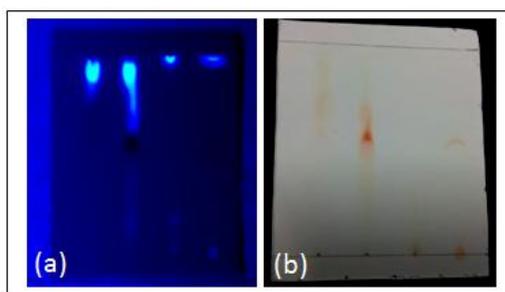
Berdasarkan hasil uji kromatografi lapis tipis fraksi etil asetat dan nilai Rf yang dihasilkan, maka perbandingan pelarut yang digunakan untuk kromatografi kolom terbuka (KKT) adalah pelarut EA:K (1:3) dengan membentuk spot yang paling banyak yaitu 3 spot dengan warna kuning dan jingga. Nilai atau harga Rf dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu adanya struktur kimia senyawa, sifat penyerap dan derajat aktivasi serta faktor dari pelarut.

Kromatografi Kolom Terbuka (KKT)

Kromatografi kolom terbuka menghasilkan empat fraksi yaitu fraksi kloroform (Fraksi 1), fraksi etil asetat: kloroform (Fraksi 2), fraksi etil asetat (Fraksi 3), dan fraksi etil asetat: methanol (Fraksi 4). Keempat fraksi diuji kromatografi lapis tipis kembali untuk mengetahui golongan senyawanya. Visualisasi plat KLT untuk memperjelas spot/bercak serta memunculkan warna senyawa. Warna pada fraksi merupakan indikator suatu senyawa atau golongan senyawa tertentu. Visualisasi Fraksi 2 dengan larutan vanilin asam sulfat menghasilkan spot dengan warna kuning dan jingga. Warna kuning menunjukkan bahwa senyawa tersebut sebagai asam lemak.

Tabel 1. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Kromatografi Kolom Terbuka yang Divisualisasi Menggunakan Vanilin Asam Sulfat

Fraksi	Jumlah spot	Nilai Rf	Warna spot
1	3	0,57 ; 0,76 ; 0,89	Kuning, jingga
2	4	0,45 ; 0,52 ; 0,57 ; 0,72	Kuning, jingga
3	1	0,40	Kuning
4	1	0,54	Jingga

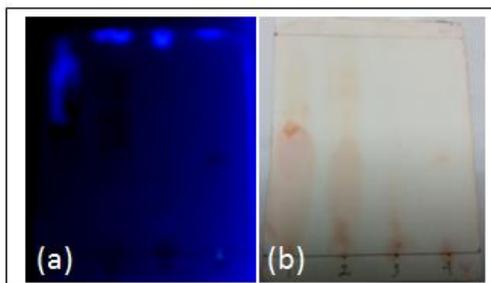


Gambar 1. Hasil Visualisasi Plat KLT Fraksi KKT Berurutan dari Fraksi 1, 2, 3, dan 4 dengan Sinar UV (a) dan Vanilin Asam Sulfat (b)

Visualisasi menggunakan larutan Ninhydrin menunjukkan fraksi 2 memiliki spot paling banyak yaitu empat noda dengan warna jingga dan merah muda. Warna merah muda menunjukkan bahwa fraksi 2 mengandung senyawa alkaloid. Hal tersebut sesuai dengan Touchstone and Murrell (1983), yang menyatakan bahwa warna yang dihasilkan melalui visualisasi plat KLT menggunakan *Ninhydrin* termasuk dalam golongan senyawa asam amino dan warna kuning untuk senyawa *proline*, dimana kedua senyawa tersebut masuk dalam golongan senyawa alkaloid.

Tabel 2. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Kromatografi Kolom Terbuka yang Divisualisasi Menggunakan Ninhydrin

Fraksi	Jumlah spot	Nilai Rf	Warna spot
1	2	0,52; 0,86	Kuning, jingga, merah muda
2	4	0,34; 0,46; 0,72; 0,84	Kuning, merah muda
3	2	0,16; 0,44	Kuning, merah muda
4	1	0,4	Jingga



Gambar 2. Hasil Visualisasi Plat KLT Fraksi KKT berurutan dari fraksi 1, 2, 3, dan 4 dengan Sinar UV (a) dan Ninhydrin (b)

Uji Utama Aktivitas Antibakteri

Hasil uji keempat fraksi menunjukkan bahwa fraksi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri patogen yaitu fraksi 2 (fraksi etil asetat:kloroform), sedangkan fraksi 1 dan fraksi 3 juga menunjukkan adanya zona hambat pada media namun dengan diameter zona hambat yang lebih kecil.

Fraksi 4 juga menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi ekstrak 100 µg/disk dan 50 µg/disk, dan tidak dapat membentuk zona hambat pada konsentrasi 25 µg/disk pada uji terhadap bakteri *E. coli* maupun bakteri *S. aureus*. Fraksi 2 paling aktif menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri uji merupakan fraksi yang senyawanya larut dalam pelarut non-

polar dan semi-polar. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka kemampuan untuk membentuk zona hambat akan semakin tinggi (Dwijoseputro, 2003).

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kromatografi Kolom Terbuka terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Fraksi	Diameter Zona Hambatan (mm)					
	<i>E. coli</i>			<i>S. aureus</i>		
	100 µg/disk	50 µg/disk	25 µg/disk	100 µg/disk	50 µg/disk	25 µg/disk
1	9,98±0,26	6,52±0,68	3,47±0,05	7,97±0,66	5,90±0,75	3,43±0,05
2	10,9±0,02	6,30±0,24	4,17±0,14	9,62±0,31	5,82±0,40	3,23±0,28
3	6,43±0,57	5,05±0,73	2,70±0,19	5,92±0,12	5,18±0,59	4,33±0,42
4	3,77±0,05	2,27±0,05	0,00±0,00	2,97±0,24	2,37±0,66	0,00±0,00

Keterangan : - Rata-rata ± Standar Deviasi

- Data tersebut telah dikurangi diameter *paper disk* sebesar 5 mm

- Kontrol positif menggunakan antibakteri kloramfenikol 10 µg/disk dengan zona hambat 12,2 mm

Identifikasi Jenis Spons

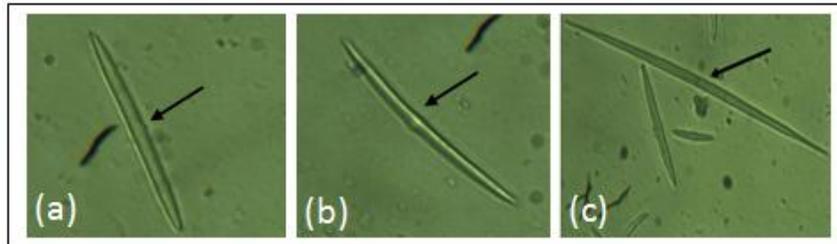
Berdasarkan hasil identifikasi morfologi spons, yaitu spons dengan kode K14-52 berwarna kuning-oranye, bentuk tubuh agak membulat dengan permukaan spons yang kasar. Saluran masuk air ke dalam tubuh spons melalui pori-pori kecil (*ostia*) kurang jelas, sedangkan saluran keluar air (*oskula*) terletak tidak beraturan tampak lebih jelas karena memiliki ukuran yang lebih besar dan berada pada bagian atas tubuh spons. Saluran air keluar melalui oskula dapat mempengaruhi mimik permukaan luar spons.



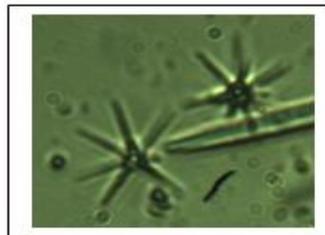
Gambar 3. Sampel Spons K14-52 yang Diperoleh dari Perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur.

Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop berdasarkan ukurannya, spikula spons dibedakan menjadi dua, yaitu makrosklera dan mikrosklera (Uriz *et al.*, 2003). Makrosklera yang ditemukan yaitu monoaxon spikula *Hastate oxea* dengan bentuk panjang dan ujung tidak terlalu runcing di kedua bagian ujungnya, *Centrotylote oxea* dengan bentuk memanjang dan runcing di kedua bagian ujungnya dan memiliki bentuk bulatan pada

bagian sentral atau tengah spikula. *Fusiform oxea* merupakan spikula memanjang dan memiliki ujung runcing di kedua ujungnya. Sedangkan mikrosklera yang ditemukan adalah tetraxon spikula yaitu *oxyasters* berbentuk bulat dengan enam ujung runcing di bagian sisinya. Menurut Hooper (2003), monoaxon pada makrosklera merupakan spikula yang hanya memiliki tidak lebih dari dua ujung (titik pertumbuhan), sedangkan tetraxon spikula memiliki empat ujung, masing-masing dengan satu pusat sumbu.



Gambar 4. Monoaxon Spikula pada Perbesaran 40x dari Spons K14-52 yaitu *Hastate oxea* (a), *Centrotylote oxea* (b), *Fusiform oxea* (c)



Gambar 5. Tetraxon Spikula (*Oxyaster*) pada Perbesaran 100x dari Spons K14-52

Berdasarkan hasil identifikasi tersebut, diduga spons K14-52 masuk ke dalam kelas Demospongia dengan nama spesies *Rhabdastrella globostellata*. Hal ini sesuai dengan Uriz *et al.* (2003) yang menyatakan kebanyakan Demospongiae dan Hexactinellida memproduksi skeleton pembentuk spikula yang terdiri dari spikula individual dengan panjang mikrometer hingga sentimeter.

KESIMPULAN

Ekstrak spons K14-52 dari Perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur memiliki potensi antibakteri tertinggi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan menghasilkan empat fraksi dalam KKT dengan aktivitas antibakteri tertinggi oleh fraksi 2 sebesar $10,9 \pm 0,02$ mm terhadap bakteri *E.coli* dan $9,62 \pm 0,31$ mm terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi $100 \mu\text{g/disk}$. Uji KLT dengan visualisasi menggunakan Vanilin asam sulfat dan Ninhydrin menunjukkan bahwa

fraksi 2 mengandung senyawa asam lemak dan alkaloid. Berdasarkan identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa spons K14-52 adalah *Rhabdastrella globostellata* dalam kelas Demospongia.

DAFTAR PUSTAKA

- Aktas, N., Gozcelioglu B., Zang Y, Lin W.H, Konuklugil B. 2010. *Avarone and Avarol from the Marine Sponge Dysidea avara Schmidt from Aegean Coast of Turkey*. J. Pharm. Sci, 35 : 119-123
- Amir, I., dan Budiyanoto, A. 1996. *Mengenal Spons Laut (Demospongiae) secara Umum*. Oseana, XXI (2) : 15 – 31.
- Dwidjoseputro, D. 2003. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Ginting, E.L., Veibe W, dan Rizal W.S. 2010. *Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Kasar Bakteri yang Berasosiasi dengan Sponge Acanthostrongylophora sp.* Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis, VI (3).
- Hayati, E.K., Akyunul J, Rachmawati N. 2012. *Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica L)*. Jurnal Molekuler, 7 (1) : 20 – 32.
- Hooper, J.N.A. 2003. *Sponguide : Guide to Sponge Collection and Identification*. Queensland Museum. South Brisbane, Australia.
- Khoshkhoo, Zh., M. Nazemi, A. Motalebi, M. Mahdabi, A. Ashja Ardalan, and R. Hemati Matin. 2012. *Fisrt Record of Siliceous and Calcareous Sponges from Larak Island, Persian Gulf-Iran*. Middle-East Journal of Scientific Research. 11 (7) : 887-893.
- Lee, Y.K., Jung-Hyun L., and Hong Kum L. 2001. *Microbial Symbiosis in Marine Sponges*. The Journal of Microbiology, 39 (4) : 254 – 264.
- Romimohtarto, K dan Sri Juwana. 2001. *Biologi Laut, Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut*. Jakarta : Penerbit Djambatan.
- Rumengan, A.P dan MAngindaan, R.E.P. 2013. *Telaah Sitotoksik dari Ekstrak Karang Lunak Nephtea sp.* Jurnal Pesisir dan Laut Tropis, 3 (1) : 24-30.
- Satari, M. H. 2012. *Multidrug Resistance (MDR) Bakteri Terhadap Antibiotik*. Prosiding Temu Ilmiah Bandung. Bagian Oral Biologi/Mikrobiologi FKG Universitas Padjadjaran.
- Suriani, Hanapi U., dan Alyar A. 2012. *Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder dari Sponge Callyspongia sp.* Marina Cimica Arta, 12 (1) : 2 – 7.

- Touchstone, J.C, and Murrell, F.D. 1983. *Practice of Thin Layer Chromatography 2nd Edition*. University of Pennsylvania, School of Medicine. A Wiley-Interscience Publication.
- Tinambuan, H., Melki dan Isnaini. 2012. *Efektifitas Ekstrak Bakteri yang Berasosiasi dengan Sponge dan Karang Lunak sebagai Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung*. Maspari Journal, 4 (2) : 225 – 230.
- Uriz, M. J., Xavier Turon, Mikel A.B, and Gemma Agell. 2003. *Siliceous Spicules and Skeleton Frameworks in Sponges : Origin, Diversity, Ultrastructural Patterns, and Biological Functions*. Microscopy Research and Technique. 62 : 279-299
- Valgas, C. S.M, Souza, E.F.A, Smania and A. Smania. 2007. *Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products*. Braz. J. Microbiol, 38 : 369-380.