**Potensi Antibakteri Ekstrak Spons Laut Koleksi Perairan Grand Watu Dodol Banyuwangi**

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak spons laut dari perairan Grand Watu Dodol Banyuwangi terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Escherichia coli* dan *Escherichia coli* MDR (*Multi Drug Resistant*). Penelitian ini menggunakan metode *experimental laboratory*. Sampel yang ditemukan berjumlah 4 spons dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol dengan pengulangan 3 kali. Hasil pasta ekstrak spons diujikan dengan metode difusi cakram terhadap bakteri patogen *S. aureus, V. parahaemolyticus, E. coli* dan *E. coli* MDR. Uji antibakteri menggunakan konsentrasi 10 mg/ml dengan pengulangan 2 kali. Hasil ekstraksi yang diperoleh dari keempat sampel hanya 3 yang dapat menghasilkan ekstak senyawa bioaktif. Aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *S. aureus* menghasilkan zona hambat paling besar didapat oleh GWD B dengan rata-rata 8,89 mm. Patogen  *E.coli, zona hambat* paling besar didapat oleh GWD B dengan rata-rata 8,90 mm. Patogen *V. parahaemolyticus* zona hambat paling besar didapat oleh GWD A menghasilkan zona hambat dengan rata-rata 7,30 mm. Patogen *E.coli* *MDR* menghasilkan zona hambat paling besar didapat oleh GWD A dengan rata-rata zona hambat paling besar 7,26 mm.

**Kata kunci**:antibakteri, Banyuwangi, ekstrak, spons

**ABSTRACT**

*This study aims to the antibacterial activity of sea sponge extract from the waters of Grand Watu Dodol Banyuwangi against the pathogenic bacteria Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Escherichia coli and Escherichia coli MDR (Multi Drug Resistant). This study uses an experimental laboratory method. The samples found were 3 sponges and macerated using methanol solvent with 3 repetitions. The results of the sponge extract paste were tested by disc diffusion method against pathogenic bacteria S. aureus, V. parahaemolyticus, E. coli and E. coli MDR. Antibacterial test using a concentration of 10 mg/ml with 2 repetitions.* *The extraction results obtained from the four samples only 3 that can produce bioactive compound extracts. Antibacterial activity against pathogenic bacteria S. aureus produced the largest inhibition zone obtained by GWD B with an average of 8.89 mm. Pathogen E.coli, the largest inhibition zone obtained by GWD B with an average of 8.90 mm. Pathogen V. parahaemolyticus the largest inhibition zone obtained by GWD A produced an inhibition zone with an average of 7.30 mm. Pathogen E.coli MDR produced the largest inhibition zone obtained by GWD A with the largest average inhibition zone of 7.26 mm.*

**Keywords**: *antibacterial, Banyuwangi, extract, sponges*

**PENDAHULUAN**

Bahan alam laut menjadi salah satu alternatif sumber obat antibiotik baru atau agen antibakteri untuk mengatasi penyakit infeksi bakteri yang saat ini menjadi masalah karena sifat resistensinya (tahan terhadap obat antibiotik yang beredar di pasaran). Salah satu jenis bahan alam laut yang banyak mengandung substansi bioaktif antibakteri adalah spons laut (Josua *et. al.*, 2021). Senyawa bioaktif pada spons mencapai 45%, senyawa ini mampu mencegah dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Maisaroh *et al.* 2023). Menurut Aristyawan *et al.* (2017), spons merupakan biota yang memiliki kandungan senyawa aktif lebih banyak dibanding *algae* atau tumbuhan darat. Di antara *invertebrate* laut yang lain, spons menduduki tempat teratas sebagai sumber substansi aktif.

Keanekaragaman hayati yang tinggi menyebabkan terjadinya kompetisi ruang bagi biota laut yang ada di ekosistem terumbu karang. Bagi hewan-hewan *sessile* yang menempel pada subtrat membutuhkan kemampuan kimiawi untuk menambah ruang hidup di habitatnya. Hal ini berlaku bagi spons yang tinggal di ekosistem terumbu karang. Bagaimanapun, hal ini menjadi respon adaptasi yang dilakukan oleh spons untuk dapat bertahan hidup di wilayah yang ekstrim (keanekaragaman hayati yang tinggi). Cara adaptasi spons ini memberikan hipotesis mengenai metabolit sekunder yang dapat dihasilkan spons. Berdasarkan Mohamad *et al.* (2017) metabolit sekunder diproduksi oleh biota laut (spons) untuk menghadapi seleksi alam sehingga menghasilkan respon spesifik terhadap lingkungan. Adanya perbedaan kondisi lingkungan seperti tingginya kekuatan ionik pada air laut, intensitas cahaya yang kecil, temperatur dan tekanan, membuat spons memiliki kemungkinan menghasilkan metabolit yang memiliki struktur kimia yang spesifik dan bervariasi. Hasil dari metabolit sekunder spons ini dapat dimanfaatkan menjadi produk alam potensial sebagai bahan baku obat, salah satunya sebagai antibiotik.

Spons yang hidup di perairan sekitar Perairan Grand Watu Dodol Banyuwangi mengalami tekanan kompetisi ruang antar spesies, maka senyawa aktif yang dihasilkan juga akan semakin kompleks dan berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai agen antibakteri patogen. Hal ini menjadi alternatif bahan baku obat antibiotik untuk menjawab permasalahan resistensi bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengeksplorasi keberadaan spons di ekosistem terumbu karang perairan Grand Watu Dodol Banyuwangi sebagai agen antibakteri dan mengetahui bagaimana aktivitas antibakteri dari ekstrak spons laut terhadap beberapa bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Escherichia coli.*

**METODE PENELITIAN**

Pengambilan sampel dilakukan di Perairan Grad Watu Dodol Banyuwangi dengan kedalaman 6 – 10 meter pada bulan Maret 2023. Pengambilan sampel spons berdasarkan metode yang digunakan untuk pengambilan sampel biota laut menurut Sa’adah (2020) dan Novitasari *et al.* (2023), yaitu sampel spons yang diambil dari perairan dimasukkan ke plastik *zip lock* dan disimpan dalam *cool box* kemudian dibawa ke Laboratorium Integrasi UIN Sunan Ampel untuk dilakukan ekstraksi dan uji antibakteri.

Tahap persiapan meliputi survey pendahuluan, inventarisasi alat dan bahan. Ketika persiapan telah dilakukan, dilanjutkan dengan proses pengambilan sampel. Sampel spons diambil/dikoleksi dari Perairan Grand Watu Dodol, Banyuwangi. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara snorkling dan/atau diving dengan bantuan alat gunting untuk memotong spons. Setelah sampel berhasil diangkat dari perairan, disimpan di dalam *coolbox* yang berisi es batu agar sampel tetap segar dan tidak rusak.

Prosedur selanjutnya adalah melakukan ekstraksi sampel spons. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol selama 3x24 jam (Wijayanti *et. al.*, 2016). Sampel akan ditimbang dahulu kemudian direndam di dalam erlenmeyer dengan metanol yang telah diukur volumenya. Perendaman berfungsi untuk menyerap senyawa-senyawa yang ada pada spons baik yang bersifat polar maupun nonpolar. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali perulangan yang tiap perulangan dilakukan penyaringan dengan bantuan corong *buchner* (Sukmaningrum *et al*. 2021)*.* Kemudian memindahkan filtrat sampel ke *round bottom flask* kemudian menguapkannya dengan suhu 37 oC menggunakan *rotary evaporator* hingga semua pelarut teruapkan (Trianto *et al.* 2011). Setelah itu, menimbang ekstrak dengan timbangan analitik.

Tahapan selanjutnya adalah uji ekstrak spons terhadap bakteri patogen *S. aureus, V. parahaemolyticus* dan *E. coli* dengan metode difusi cakram. Penelitian ini menggunakan media padat Zobell 2216E yang digunakan untuk skrining antibakteri. Media Zobell 2216E direkomendasikan untuk pembiakan, isolasi dan perhitungan bakteri. Media ini dapat digunakan untuk bakteri air laut maupun bakteri air tawar. Tahapan peremajaan bakteri patogen menggunakan media Zobell 2216E dalam bentuk cair/tanpa penambahan *bacto agar*. Uji aktivitas antibakteri ini ditentukan dengan metode difusi agar/cakram menggunakan media Zobell 2216E (Dhinakaran dan Lipton, 2012). Urutan prosedur uji secara urut yaitu sterilisasi alat, persiapan dan pembuatan media Zobell 2216E, penyegaran bakteri uji dan uji skrining.

Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan *autoclave*. Proses sterilisasi untuk alat-alat yang berbahan kaca sebelum digunakan dicuci dahulu kemudian dibungkus kertas dan dimasukkan ke *autoclave* pada suhu 121oC dengan tekanan 1,5 atm selama 20 menit dan dikeringkan dengan oven. Sterilisasi untuk media dilakukan dengan cara memasukkan media ke *autoclave* pada suhu 121oC dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Sedangkan jarum ose, pinset, *diglasky glass* disterilkan dengan cara dipijarkan di atas bunsen atau di bawah lampu UV (Sa’adah, 2020).

Media yang harus disiapkan yaitu media cair Zobell 2216E dan media padat Zobell 2216E. Larutan media dipanaskan sambil diaduk dalam *beaker glass* menggunakan *magnetic stirer* hingga homogen, kemudian media disterilisasi menggunakan *autoclave* (Prayitno, 2018).

Bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus* yang akan digunakan sebagai bakteri uji harus disegarkan ke dalam media cair Zobell 2216E. Penyegaran dilakukan dengan cara mengambil 1 ose masing-masing bakteri dari agar miring, kemudian ditanam pada media cair Zobell 2216E steril. Selanjutnya bakteri yang ada di media cair Zobell 2216E dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37 oC. Setelah 24 jam didapatkan bakteri uji yang langsung dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Napitulu *et al.* 2019).

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak yang berbeda dapat menggunakan metode difusi-cakram. Bakteri uji (*S. aureus*, *V. parahaemolyticus, E.coli* dan *E. coli* MDR) yang telah disegarkan, diinokulasikan pada media padat Zobell 2216E sebanyak 1% (100 µl/100 ml) lalu diratakan menggunakan *diglasky glass*. Konsentrasi ekstrak spons yaitu 10mg/ml. Kontrol negatif menggunakan *paper disc* yang ditetesi MeOH. *Paper disc* yang sudah ditetesi ekstrak diletakkan di dalam cawan petri berisi *E. coli* dan *S. aureus*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37 oC selama 18-24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong (Widyowati *et al.* 2023)

Analisis data rendemen menggunakan rumus menurut Wahyuni dan Widjanarko (2014) yaitu:

% Rendemen = x 100%

Analisis zona hambat diukur secara kuantitatif berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disk* menggunakan jangka sorong dengan pengulangan perhitungan sebanyak 3 kali.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sampel spons yang didapatkan diberikan kode untuk memisahkan sampel satu dengan yang lainnya. Hal ini dimaksudkan untuk memudahkan proses perlakuan mulai dari maserasi sampai dengan uji antibakteri serta identifikasi jenis spons. Tiga sampel spons yang didapatkan diberikan kode GWD A, GWD B dan GWD C.

Hasil rendeman ekstrak pasta spons diukur berdasarkan rumus prosentase rendemen yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Prosentase berat ekstrak dan residu

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Kode Sampel | Maserasi | Ekstrak (Rendemen) | | Residu | |
| sampel (gr) | (gr) | (%) | (gr) | (%) |
| GWD-A | 60,2 | 0,2788 | 0,46 | 59,92 | 99,54 |
| GWD-B | 47 | 0,2540 | 0,54 | 46,75 | 99,46 |
| GWD-C | 46,4 | 0,1268 | 0,27 | 46,27 | 99,73 |

Spons yang menghasilkan prosentase *crude extract* paling banyak adalah spons kode GWD-B yaitu mendapatkan 0,54%. Residu paling banyak dihasilkan oleh sponge kode GWD-C. 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).

Pada penelitian ini sampel spons yang digunakan bervariasi antara 35,8 – 60,2 gram 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 di bawah metanol. Metanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar sehingga kandungan bioaktif pada sampel spons dapat terserap.

Spons dihancurkan guna memecah dinding sel, memperlebar luas permukaan sehingga mempermudah pelarut masuk kedalam spons dan melarutkan senyawa bioaktif (Jones dan Kinghorn, 2006). Hal tersebut yang menyebabkan metabolit sekunder akan terlarut. Tahap maserasi dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut pada suhu ruang selama 1 x 24 jam. Selama proses perendaman berlangsung dilakukan beberapa kali pengadukan (Sukmaningrum *et al*. 2021) Filtrat hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring *Whattman* 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.

Tabel 2. Hasil pengukuran zona hambat spons GWD A

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Ekstrak Etanol Spons GWD A | | | kontrol Positif Cloramfenikol | |
| Uji Zona Hambat | Rata-Rata ± SD (mm) | Interpretasi Daya Hambat | Rata-Rata ± SD (mm) | Interpretasi Daya Hambat |
|  |
| *S. aureus* | 7,87 ± 0.01 | *Resistant* | 25,11 ± 0,01 | Susceptible |  |
| *E. coli* | 7,91 ± 0.01 | *Resistant* | 25,21 ± 0,01 | Susceptible |  |
| *V. parahaemolyticus* | 7,30 ± 0.01 | *Resistant* | 21,31 ± 0,02 | Susceptible |  |
| *E.coli MDR* | 7,26 ± 0.01 | *Resistant* | 0,00 ± 0,00 | *Resistant* |  |

Hasil pengujian zona hambat sampel GWD A ditunjukan pada Tabel 2, dimana pada pengujian terhadap bakteri *S. aureus*  menghasilkan nilai zona hambat dengan nilai rata-rata 7,87 mm. Zona hambat yang dihasilkan jika dibandingkan dengan ketentuan dari Hudzicki (2012), maka masuk dalam kategori *resistant* atau bisa dikatakan lemah. Kontrol positif berupa kloramfenikol sebagai tolak ukur kemampuan ekstrak dalam meghambat pertumbuhan bakteri Kontrol positif kloramfernikol menghasilkan nilai zona hambat rata-rata 25,11 mm kategori *susceptible* / kuat. Hasil pengujian zona hambat pada bakteri *E. coli* menghasilkan zona hambat 7,91 mm, kontrol positif rata-rata 25,21 mm. Uji Zona Hambat *V. parahaemolyticus* menghasilkan zona hambat rata-rata 7,30 mm. Uji Zona Hambat *E.coli MDR* menghasilkan nilai zona hambat rata-rata 7,26 mm. Berdasarkan Tabel 2, hasil pengujian zona hambat sampel GWD A terhadap bakteri *E. coli* menghasilkan zona hambat paling besar yaitu 7,91 mm dan zona hambat paling kecil pada *E.coli MDR* dengan rata-rata 7,26 mm.

Tabel 3. Hasil pengukuran zona hambat spons GWD B

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Ekstrak Etanol Spons GWD B | | | kontrol Positif Cloramfenikol | |
| Uji Zona Hambat | Rata-Rata ± SD (mm) | Interpretasi Daya Hambat | Rata-Rata ± SD (mm) | Interpretasi Daya Hambat |
|  |
| *S. aureus* | 8,89 ± 0,01 | *Resistant* | 25,11 ± 0,01 | Susceptible |  |
| *E. coli* | 8,90 ± 0,01 | *Resistant* | 25,21 ± 0,01 | Susceptible |  |
| *V. parahaemolyticus* | 0,00 ± 0,00 | *Resistant* | 21,31 ± 0,02 | Susceptible |  |
| *E.coli MDR* | 0,00 ± 0,00 | *Resistant* | 0,00 ± 0,00 | *Resistant* |  |

Pengujian zona hambat Ekstrak Etanol Spons GWD B disajikan pada Tabel 3. Hasil menunjukkan nilai pada Uji Zona Hambat *S. aureus* mendapatkan zona hambat dengan nilai rata- rata 8,89 mm. Uji Zona Hambat *E. coli* menghasilkan zona hambat rata-rata 8,90 mm. Uji Zona Hambat *V. parahaemolyticus* tidak menunjukan adanya zona hambat. Tidak adanya zona hambat dimungkinkan karena ekstak etanol GWD B tidak memiliki kandungan metabolit sekunder yang cocok dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus*. Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif bersifat patogen yang memiliki habitat di air laut, yang sering menjangkiti hewan di laut maupun manusia (Hasanah *et al*. 2022). Uji zona hambat *E.coli MDR* tidak menghasilkan zona hambat.

Tabel 4. Hasil pengukuran zona hambat spons GWD C

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Ekstrak Etanol Spons GWD C | | | kontrol Positif Cloramfenikol | |
| Uji Zona Hambat | Rata-Rata ± SD (mm) | Interpretasi Daya Hambat | Rata-Rata ± SD (mm) | Interpretasi Daya Hambat |
|  |
| *S. aureus* | 8,10 ± 0,01 | *Resistant* | 25,11 ± 0,01 | Susceptible |  |
| *E. coli* | 8,83 ± 0,01 | *Resistant* | 25,21 ± 0,01 | Susceptible |  |
| *V. parahaemolyticus* | 0,00 ± 0,00 | *Resistant* | 21,31 ± 0,02 | Susceptible |  |
| *E.coli MDR* | 6,99 ± 0,10 | *Resistant* | 0,00 ± 0,00 | *Resistant* |  |

Ekstrak Etanol Spons GWD C dalam pengujian zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* menghasilkan nilai sebesar 8,10 mm. Uji zona hambat *E. coli* menghasilkan zona hambat paling besar rata-rata 8.83 mm. pada pengujian zona hambat dengan bakteri *V. parahaemolyticus* tidak menunjukan zona bening. Uji Zona Hambat *E. coli MDR* menghasilkan zona hambat rata-rata 6.99 mm. kontrol Positif Cloramfenikol terhadap bakteri *E. coli MDR* tidak menunjukan zona hambat dimungkinkan kurangnya konsentrasi atau dapat juga disebabkan karena merupakan bakteri *E. coli MDR.* Bakteri *E. coli MDR* sendiri merupakan salah satu strain bakteri yang memiliki kekebalan pada beberapa jenis antibiotik seperti *vancomisin* dan *methicilin*. Sehingga diperlukan dosis yang lebih tinggi untuk penggunaan antibiotik yang memiliki spektrum luas seperti kloramfenikol (Oedjijono *et al*. 2017).

**KESIMPULAN**

Skrining agen antibakteri dari spons laut yang diambil dari Perairan Grand Watu Dodol Banyuwangi terhadap bakteri patogen dilakukan dengan mengekstraksi spons yang didapat guna mendapat senyawa bioaktif. Ekstrak spons yang dihasilkan GWD A 0,2788 gr, GWD B 0,2540 gr dan GWD C 0,1268 gr.

Aktivitas antibakteri dari ekstrak spons laut yang berhasil didapatkan terdapat 3 ekstrak, hasil pengujian dengan bakteri patogen *S. aureus* ketiganya menghasilkan zona hambat yang paling besar GWD B dengan rata-rata 8,89 mm. Hasil pengujian dengan bakteri patogen  *E.coli,* ketiganya menghasilkan zona hambat dan yang paling besar GWD B dengan rata-rata 8,90 mm. Hasil pengujian dengan bakteri patogen *V. parahaemolyticus* hanya GWD A menghasilkan zona hambat dengan rata-rata 7,30 mm. Hasil pengujian dengan bakteri patogen *E.coli* *MDR* yang menghasilkan zona hambat yaitu GWD A dan GWD C dengan rata-rata zona hambat paling besar diperoleh oleh GWD A sebesar 7,26 mm.

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada UIN Sunan Ampel Surabaya yang telah mendanai penelitian ini sehingga mendapatkan hasil publikasi.

**DAFTAR PUSTAKA**

Aristyawan, A.D., Sugijanto N.E., Suciati S. 2017. Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa. Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia* IV(1): 39 - 43. DOI: <https://doi.org/10.20473/jfiki.v4i12017.39-43>

Dewatisari, W. F., L. Rumiyanti, dan Rakhmawati, I. 2018. Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sanseviera sp*. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* 17(3), 197. DOI: <https://doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>

Dhinakaran, D.I. and Lipton, A.P. 2012. Antimicrobial Potential of the Marine Sponge *Sigmadocia pumila* from the South Eastern Region of India. *World J. Fish. Mar. Sci.* 4(4):344-348. DOI: <https://doi.org/10.5829/idosi.wjfms.2012.04.04.6353>

Hasanah, N., Sudaryatma, P. E., Razaq, I., Eriawati, N.N., Nugraha, W.A., Kumalasari, H., Anggraeni, P.A.S. dan Dewi, I.A.M.M. 2022. Early Detection of Contamination *Vibrio parahaemolyticus* and *Escherichia coli* in Fisheries Product Using Multiplex Polymerase Chain Reaction*. Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 171. DOI: <https://doi.org/10.22146/jsv.73314>

Hudzicki, J. 2012. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol Author Information. American Society For Microbiology, December 2009, 1–13. <https://www.asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro> [ diakses 1 Augustus 2023]

Jones, W. P., and Kinghorn, A. D. 2006. Extraction of Plant Secondary Metabolites. In Natural Products Isolation. *Humana Press*, pp. 323–351. DOI: https://doi.org/10.1385/1-59259-955-9:323

Josua, E., Wewengkang, D. dan Suoth, E. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons *Liosina paradox* dari perairan Pulau Mantehage. *Pharmacon Journal*, 10(3): 933-939. DOI: [10.35799/pha.8.2019.29386](http://dx.doi.org/10.35799/pha.8.2019.29386)

Maisaroh, D.S., Hanif, Y.A.A., Munir, M. dan Sa’adah, N. 2023. Uji Ekstrak Spons Laut Jenis *Ptilocaulis marquezii* dari Perairan Kendit sebagai Potensi Antibakteri *Escherichia coli.* *Journal of Marine Research* 12 (1):161-166. DOI: <https://doi.org/10.14710/jmr.v12i1.36278>

Mohamad, H., Rosmiati, Muhammad, T.S.T., Andrian, Y., Bakar, K., Ismail, N., Saidin, J., Latip, J., Musa, J. dan Perenrengi, A. 2017. Potential Secondary Metabolites from Marine Sponge *Aaptos aaptos* for Atherosclerosis and Vibriosis Tretments. *Natural Product Communication,* 12(8): 1227-1230*.* DOI: [10.1177/1934578X1701200819](http://dx.doi.org/10.1177/1934578X1701200819)

Napitulu, H.G., Rumengan, I.F.M., Wullur, S., Ginting, E.L., Rimper, J.R.T.S.L. dan Toloh, B.H. 2019. *Bacillus sp.* Sebagai Agensia Pengurai Dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* Yang Menggunakan Ikan Mentah Sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax* 7(1): 158-169. DOI: <https://doi.org/10.35800/jip.7.1.2019.22627>

Novitasari, A.R., Satyantini, W.H., Andriyono, S. dan Sa’adah, N.2023. [Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengurai Mikroplastik Polyethylene Terephthalate dari Sedimen Ekosistem Mangrove Pasir Putih](https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jmr/article/view/37503). *Journal of Marine Research* 12 (1): 52-60. DOI:  <https://doi.org/10.14710/jmr.v12i1.37503>

Oedjijono, Kusharyati, D. F., dan Hendrati, P. M. 2017. Aktivitas Penghambatan Bakteriosin Bifidobacterium spp. Terhadap Bakteri Multi Drugs Resistant (MDR) *Escherichia coli* dan *Klabsiella* *pneumonia*. *Pengembangan Sumber Daya Perdesaan Dan Kearifan Lokal Berkelanjutan*, *November*, 631–640.

Prayitno, D.I. 2018. Identifikasi Molekuler Berbasis 16s rDNABakteri Biopigmen yang Berasosiasi dengan AnemonSp. *Jurnal Laut Khatulistiwa,* 1 (1): 7-12. DOI: <https://doi.org/10.26418/lkuntan.v1i1.24003>

Sa’adah, N. 2020. Bakteri Simbion Akar Mangrove *Avicennia* sp. Sebagai Pendegradasi Pewarna Tekstil. *Barakuda 45 Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan* 2 (2): 50-55. DOI: <https://doi.org/10.47685/barakuda45.v2i2.91>

Savitri, I., Suhendra, L. dan Wartini, N.M. 2017. Pengaruh Jenis Pelarut pada Metode Maserasi Terhadap Karakteristik Ekstrak Sargassum polycystum. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(3): 93–101.

Sukmaningrum, K., Yudistira, A., dan Antasionasti, I. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons (*Stylissa* sp.) yang Dikoleksi Dari Teluk Manado. *Pharmacon*, 10(1): 756-761. DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32773>

Trianto, A., Hermawan, I., Suzuka, T. and Tanaka, J. 2011. Two New *Cytotoxic Candidaspongiolides* from an Indonesian Sponge. *ISRN Pharmaceutics,* 6p. DOI: [10.5402/2011/852619](http://dx.doi.org/10.5402/2011/852619)

Wahyuni, D. T. and Widjanarko, S. B. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning dengan Metode Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2):390-401.

Widyowati, W., Munir, M. dan Maisaroh, D.S. 2023. Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Metanol Jeroan dan Daging Teripang Bola (*Phyllophorus sp.*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus. Journal of Natural Sciences* 4(1):39-51. DOI:  <https://doi.org/10.34007/jonas.v4i1.353>

Wijayanti, N.P.A.D., Dewi, L.P.M.K., Astuti, K.W. dan Fitri, N.P.E. 2016. Optimasi Waktu Maserasi untuk Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Rind Menggunakan Pelarut Etil Asetat. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia 3*(1), 12-17. DOI: <https://doi.org/10.20473/jfiki.v3i12016.12-16>