

Skripsi

**ISOLASI, IDENTIFIKASI, KARAKTERISASI, DAN UJI
BIOAKTIVITAS HIDROID *Aglaophenia cupressina*
Lamoureaux PADA FRAKSI DIKLOROMETAN SEBAGAI
ANTIBAKTERI**

**MUSRIFAH TAHAR
H311 13 035**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2017**

SKRIPSI

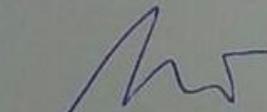
**ISOLASI, IDENTIFIKASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS
HIDROID *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux PADA FRAKSI
DIKLOROMETAN SEBAGAI ANTIBAKTERI**

Disusun dan diajukan oleh

MUSRIFAH TAHAR
H311 13 035

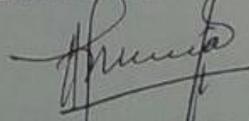
Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Dr. F. W. Mandey, M.Sc
NIP. 19650118 199002 1 001

Pembimbing Pertama



Dr. Seniwati Dali, M.Si
NIP.19581231 198803 2 003

ABSTRAK

Hidroid, salah satu jenis hewan invertebrata laut, menghasilkan sejumlah metabolit dengan bioaktivitas tertentu seperti: antivirus, antimikroba dan antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi, identifikasi, karakterisasi, dan pengujian bioaktivitas hidroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux pada fraksi diklorometan. Proses isolasi meliputi tahap-tahap maserasi, partisi, dan fraksinasi dua tahap menggunakan kromatografi kolom vakum dan tekan. Selanjutnya dilakukan pemurnian dan identifikasi menggunakan kromatografi lapisan tipis dan teknik spektroskopi (FTIR, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$). Diperoleh hasil padatan seberat 9 mg dengan titik leleh 134-135 °C, yang berdasarkan data spektroskopi C dan H NMR diduga adalah senyawa β -sitosterol asetat. Hasil uji bioaktivitas antibakteri menunjukkan bahwa senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata kunci: Isolasi, identifikasi, Hidroid *Aglaophenia cupressina* lamoureaux, β -Sitosterol asetat, Antibakteri.

ABSTRACT

Hydroids, one type of marine invertebrates, produced several secondary metabolites with certain type of bio-activity such as : antiviral, antimicrobial, and anticancer. This research are aimed to isolate, identify, characterize, and test the bioactivity of dichloromethane fraction of hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux. The isolation process including steps of maceration, partition, and two step of fractionation undergoes vacuum and pressure column chromatography. Moreover, a thin layer chromatography and sets of spectroscopy techniques (FTIR, $^1\text{H-NMR}$, and $^{13}\text{C-NMR}$) was carried out to purify and determine the structure which resulted in a β -sitosterol acetate approximately 9 mg and m.p 134-135 °C. Bioactivity test as an antibacterial agents against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* shown a positive sign of inhibition

Keywords: Isolation, identification, hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux, β -Sitosterol acetate, antibacterial.

*Kupersembahkan untuk (Alm) Ayahanda, Ibunda,
Saudaraku, orang-orang yang kucintai dan mencintaiku
karena Allah semoga amal ibadah beliau diterima
disisiNya dan setiap perbuatannya bernilai ibadah.*

**"Jika seorang anak adam (manusia) meninggal dunia, maka terputuslah amalannya kecuali dari tiga perkara, yaitu Sedekah jariyah, Doa anak yang sholeh dan Ilmu yang bermanfaat"
(H.R. Muslim)**

PRAKATA



Alhamdulillah rabbil alamin, segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT, yang telah mengizinkan penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini. Skripsi yang berjudul “**ISOLASI, IDENTIFIKASI, KARAKTERISASI, DAN UJI BIOAKTIVITAS HIDROID *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux PADA FRAKSI DIKLOROMETAN SEBAGAI ANTIBAKTERI**” disusun sebagai salah satu persyaratan akademik yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Limpahan rasa hormat dan bakti serta doa yang tulus, penulis persembahkan kepada orang tua Ayah dan Ibu tercinta, **Alm. Taharuddin** dan **Rukayah**, atas kesabaran, dukungan, kekuatan dan doa yang tak pernah putus untuk anak-anaknya, saudaraku **M. Arfah Tahar** dan **Alm. Mutmainnah Tahar** terimakasih atas segala kasih sayang, perhatian dan pengertiannya, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kasih sayang-Nya dan memberi rahmat-Nya kepada kalian. Terimakasih juga penulis haturkan kepada:

1. Ayahanda **Drs. F.W. Mandey, M.Sc** selaku pembimbing utama dan Ibunda **Dr. Seniwati Dali, M.Si** selaku pembimbing pertama yang sangat membantu penulis dan telah mengarahkan penulis sejak awal rencana penelitian hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini.

2. Bapak **Dr. H. Yusafir Hala, M.Si** (ketua), bapak **Drs. H. L. Musa Ramang, M.Si** (sekretaris), dan ibu **Dr. Sitti Fauziah, M.Si** (anggota) sebagai tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan yang berharga kepada penulis agar lebih baik lagi.
3. Ibu **Dr. Indah Raya, M.Si** selaku ketua Departemen Kimia dan seluruh dosen serta staf jurusan yang telah mengajarkan dan membantu penulis dalam berbagai hal serta menjadi orang tua penulis selama perjalanan menempuh pendidikan di Departemen Kimia. Semoga apa yang diajarkan bernilai ibadah oleh-NYA.
4. Sahabatku **Ayu Puspitasari, Maudy Audina Afandy, Nurul Khaerany** yang selalu mendukung, menemani dalam suka maupun duka, memberi semangat dan kasih sayang kepada penulis. **Riska Mardiyanti** sahabat sekaligus rekan kerja yang telah berbagi suka dan duka selama berjalannya penelitian. Kalianlah orang-orang yang selalu ada dan memberikan cinta layaknya saudara kepada penulis, semoga kita selalu didekatkan karena-NYA.
5. Saudara-saudaraku **TITRASI 2013** terimakasih atas kebahagiaan dan kenangan indah yang kalian berikan selama ini, ikatan saudara di dunia perkuliahan yang selalu berbagi suka dan duka, yang saling membantu dan memberi semangat. Ikatan ini tidak berakhir disini, karena setiap kenangan menolak untuk dilupakan. Terkhusus “TOXIC” kalianlah wanita-wanita hebat **TITRASI** yang menolak untuk dipisahkan, *“Think Smart Never Give Up be The Winner”*.
6. Saudara-saudaraku **Mipa 2013**, terkhusus buat **Pengurus BEM KMF MIPA Periode 2016-2017** terimakasih atas seluruh bantuan, dukungan dan

kebersamaan kalian. Semoga semangat itu selalu bersama kalian dimanapun kalian berada “*Semangat Ke-MIPA-an*”.

7. Rekan-rekan peneliti Laboratorium Kimia Organik, **Kak Tadir, Kak Zul, Wawan, Adhan, Butet, Fira, Murtina, Suci, Aulia**. Khususnya **Ibu Tini** selaku laboran Kimia Organik yang telah memberi dukungan dan sumbangsih yang baik, serta berbagi ilmu selama berjalannya penelitian.
8. Teman-teman **KKN Gel. 93 Kecamatan Pitumpanua, Kabupaten Wajo**, terkhusus seluruh keluarga di **Posko Desa Bau-Bau** (Bapak Usman, Kak Irfan, Kak Ilham, Kak Eda, Ucok dan Ewi).
9. Seluruh kanda-kanda, adinda-adinda dan alumni **Keluarga Mahasiswa Kimia FMIPA Unhas** yang telah berbagi ilmu dan pengalaman serta mendorong penulis untuk tetap semangat dalam menyelesaikan tugas akhir. “*HMK Tempat Kita di Bina, HMK Tempat Kita di Tempa*”.
10. Seluruh anggota dan alumni **KM FMIPA Unhas** untuk berbagai macam pelajaran berharga. Salam “*Use Your Mind Be The Best*”.

Penulis sadar akan segala kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka penulis sangat menghargai bila ada kritik dan saran demi penyempurnaan isi skripsi ini. Penulis hanya dapat berdoa agar termasuk kedalam orang-orang yang diridhoi-Nya dan apa yang dikerjakan semoga bernilai ibadah disisi-Nya serta agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi penulis dan orang-orang yang membacanya. Aamiin.

Makassar, Oktober 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xvii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Maksud Penelitian	3
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kajian Biologi Hidroid	5
2.1.1 Taksonomi <i>Aglaophenia cupressina</i> L	6
2.1.2 Morfologi.....	6
2.2 Metabolit Sekunder.....	7
2.3 Senyawa Aktif Hidroid	8
2.3.1 Senyawa Aktif Dari Hidroid <i>Aglaophenia cupressina</i> L.....	9
2.4 Uji Aktivitas Antibakteri	12

BAB III. METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Bahan Penelitian.....	15
3.2 Alat Penelitian.....	15
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
3.4 Prosedur Penelitian.....	16
3.4.1 Penyiapan dan Pengolahan Sampel	16
3.4.2 Ekstraksi dan Isolasi	16
3.4.3 Fraksinasi Ekstrak Diklorometan	16
3.4.4 Identifikasi	17
3.4.5 Pengujian Bioaktivitas Antibakteri	17
3.4.5.1 Pembuatan Medium Nutrien Agar.....	17
3.4.5.2 Penyiapan Biakan Bakteri Uji.....	17
3.4.5.3 Pembuatan Larutan Kontrol.....	18
3.4.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri.....	18
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1 Penyiapan dan Pengolahan Sampel.....	19
4.2 Ekstraksi dan Fraksinasi.....	19
4.3 Isolasi.....	20
4.4 Identifikasi.....	25
4.4.1 Uji Fitokimia.....	25
4.4.2 <i>Fourier Transform Infra Red (FTIR) Spectroscopy</i>	25
4.4.3 <i>Nuclear Magnetic Resonance Proton (¹H NMR)</i>	26
4.4.4 <i>Nuclear Magnetic Resonance Carbon (¹³C NMR)</i>	29
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	31

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	34
5.1 Kesimpulan	34
5.2 Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hidroid <i>Aglaophenia cupressina</i>	6
2. Asam Heksadekanoat.....	9
3. Aglao E. Unhas.....	10
4. β -sitosterol.....	10
5. Senyawa Murni yang Ditemukan dari Hidroid <i>A.Pluma</i>	11
6. Struktur Senyawa Gymnangiamide.....	11
7. Struktur Senyawa Tridentatol.....	12
8. Sampel Hidroid <i>Aglaophenia Cuppresina L.</i>	19
9. Fraksi DCM Hidroid <i>Aglaophenia Cupressina L.</i>	20
10. Hasil Penelusuran Komposisi Eluen.....	21
11. Analisa KLT Fraksi 5-9 dari Tahap KKV.....	22
12. Analisis KLT Fraksi 6-9 dari Tahap KKT.....	23
13. Analisis KLT Preparatif.....	23
14. Hasil Rekristalisasi.....	23
15. Hasil KLT Fraksi dengan Satu Noda Tunggal.....	24
16. Hasil KLT Dua Dimensi.....	24
17. Hasil Uji Fitokimia Senyawa 1.....	25
18. Hasil Identifikasi Spektrofotometer FTIR pada Senyawa 1.....	26
19. Hasil Identifikasi Senyawa 1 dengan Menggunakan ^1H NMR.....	27
20. Hasil Identifikasi Senyawa 1 dengan Menggunakan ^{13}C NMR.....	29

21. Struktur Senyawa β -sitosterol Asetat yang Telah Berhasil Diidentifikasi dari Hidroid <i>Aglaophenia Cuppresina</i> L.....	31
22. Uji Antibakteri Terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i>	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Uji Daya Hambat Ekstrak Biota Laut.....	14
2. Perbandingan ^1H NMR Senyawa 1 dengan ^1H NMR β -Sitosterol Asetat.....	28
3. Perbandingan ^{13}C NMR Senyawa 1 dengan ^{13}C NMR β -Sitosterol Asetat.....	30
4. Pengukuran Daya Hambat Senyawa 1, Kontrol Positif, dan Kontrol Negatif Terhadap bakteri Uji.....	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Penyiapan Sampel	39
2. Bagan Ekstraksi dan Isolasi	40
3. Fraksinasi Ekstrak Metanol dan diklorometan (DCM)	41
4. Identifikasi	42
5. Uji Bioaktivitas	43
6. Dokumentasi Penelitian	46
7. Hasil Spektroskopi IR	47
8. Data NMR	48

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/ Singkatan	Arti
<i>Aglaophenia cupressina</i> L.	<i>Aglaophenia cupressina</i> Lamoureux
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>A. Salina</i>	<i>Artemia salina</i>
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MLC	<i>Minimum Lethal Concentration</i>
DCM	Diklorometan
DMSO	Dimetilsulfoksida
μg	Mikro Gram
μL	Mikro Liter
FT IR	<i>Fourier Transform Infra Red</i>
KKV	Kromatografi Kolom Vakum
KKT	Kromatografi Kolom Tekan
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LatarBelakang

Keberadaan garis pantai sepanjang lebih kurang 81.000 km, menjadikan Indonesia sebagai negara kepulauan dengan potensi kekayaan alam laut yang sangat besar dan tingkat keragaman hayati yang sangat tinggi, diantaranya adalah keanekaragaman jenis biota laut (Handayani dkk., 2008).

Lingkungan laut, selain merupakan sumber bahan pangan untuk menunjang kehidupan manusia, juga merupakan tempat yang menyediakan berbagai senyawa kimia, dengan beragam sifat dan khasiat farmakologi aktif secara melimpah (Handayani dkk., 2008) serta sangat potensial untuk dikembangkan menjadi bahan obat maupun bahan baku untuk sintesis obat baru (Nursid dkk., 2006).

Hidroid, salah satu jenis invertebrata laut, sering ditemukan tumbuh bersama organisme laut lainnya, misalnya: spons, karang laut, moluska, arthropoda dan alga (Tseng dkk., 2014). Bentuk hidroid menyerupai tumbuhan dan diketahui kaya akan kandungan senyawa aktif, seperti: steroid, terpenoid, β -*carbolin*, *histamine*, dan *tridentatol A*, suatu antioksidan kuat terhadap lipid dengan potensi yang lebih besar daripada vitamin E (Johnson dkk., 1999).

Organisme laut seperti hidroid, yang tidak memiliki sistem pertahanan fisik, menggunakan mekanisme kimiawi untuk pertahanan diri. Hal ini dilakukan dengan mensintesis senyawa kimia seperti toksin, ataupun melakukan simbiosis dengan organisme laut lain, misalnya mikroorganisme yang memiliki kemampuan

mensintesis senyawa tersebut yang dapat menghindarkan hidroid dari gangguan pemangsa dan pesaing lain, ataupun melumpuhkan mangsanya (Haefner, 2003). Senyawa aktif tersebut karena aktivitas farmakologinya memiliki prospek untuk diisolasi dan dimanfaatkan dalam bidang pengobatan (Sardjoko, 1996).

Sejumlah senyawa dengan bioaktivitas tertentu telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari Hidroid. Senyawa 6-bromo-etil- β -carbolin, 6-bromo-1-metil- β -carbolin dan 6,8-dibromo-1-etil- β -carbolin adalah metabolit sekunder dari hidroid *Aglaophenia pluma* Linnaeus yang diketahui aktif sebagai antivirus dan antimikroba (Aiello dkk., 1987). Gymnangiamide yang dihasilkan dari hidroid *Gymnangium (Aglaophenia) regae* aktif sebagai antikanker (Milanowsky dkk., 2004) dan Tridentatol yang berperan sebagai antioksidan berhasil diisolasi dari hidroid *Tridentata marginata* (Johnson dkk., 1999).

Selanjutnya, *Aglaophenia cupressina* L. diketahui menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antibakteri yaitu senyawa asam heksadekanoat dan senyawa *Aglounhas* (Johannes, 2008). Bendon (2013) berhasil mengisolasi isolat fraksi etil asetat senyawa golongan alkaloid yang memiliki aktivitas antibakteri. Pemilihan fraksi diklorometan mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Aeny (2017) yang mengisolasi metabolit sekunder fraksi diklorometan jintan putih yang memiliki aktivitas antibakteri. Selanjutnya, Wetungu (2014) mengisolasi fraksi diklorometan daun *Tarchonanthus camphoratus* yang memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan fraksi diklorometan dalam isolasi hidroid *Aglaophenia cupressina* L.

Hidroid *Aglaophenia cupressina* L. merupakan spesies yang banyak dijumpai di perairan Pulau Samalona, Kepulauan Spermonde, diduga hidroid ini

memiliki banyak kandungan metabolit sekunder yang baru, namun belum ada penelitian mengenai isolasi hidroid *Aglaophenia cupressina* L. menggunakan fraksi diklorometan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi metabolit sekunder dari hidroid *Aglaophenia cupressina* L. pada fraksi diklorometan serta sifat bioaktivitasnya sebagai antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini yaitu:

1. Metabolit sekunder apa yang terdapat pada fraksi diklorometan hidroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux?
2. Bagaimana struktur molekul metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi diklorometan hidroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux?
3. Bagaimanakah bioaktivitas senyawa metabolit sekunder dari fraksi diklorometan hidroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi diklorometan *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux serta sifat bioaktivitasnya.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengisolasi, mengidentifikasi, mengkarakterisasi, dan memurnikan senyawa metabolit sekunder dari fraksi diklorometan hidroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux.

2. Mengidentifikasi struktur senyawa bioaktif dari fraksi diklorometan *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux.
3. Menguji bioaktivitas senyawa metabolit sekunder fraksi diklorometan *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux sebagai antibakteri.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberikan informasi mengenai kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi diklorometan *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux.
2. Memberikan informasi tentang senyawa bioaktif hidroid *Aglaophenia cupressina* yang memiliki potensi sebagai antibakteri.
3. Sebagai awal dari eksplorasi obat antibakteri yang baru.
4. Memberikan pengalaman melakukan penelitian kepada peneliti untuk kebutuhan dunia kerja dimasa depan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Biologi Hidroid

Filum cnidaria (sebelumnya *coelenterata*) merupakan filum hewan laut dengan bentuk fisik simetrik radial. Badan cnidaria dapat dibedakan menjadi dua. Bentuk pertama adalah polipoid, seperti pada hidra dan anemon laut, berbentuk silinder dengan lubang oral menghadap ke atas dan lubang aboral melekat pada dasar. Bentuk kedua adalah bentuk medusoid seperti pada ubur-ubur (Vilee, 1978). Ciri khas filum cnidaria adalah sel-sel penyengat yang disebut nematosit. Nemosit merupakan sel penyengat yang unik yang ditemukan pada cnidaria, dimana tiap nematosit terdiri atas organel yang dikenal sebagai nematosis yang dilepaskan saat terjadi kontak dengan substrat asing yang sesuai (Lubbock, 1979). Filum ini juga memiliki kemampuan mensintesis produk seluler yang sangat kompleks yang disebut cnida (Daly dkk., 2007).

Cnidaria telah menjadi salah satu objek studi kimia yang penting untuk mengisolasi sejumlah besar metabolit sekundernya. Sebagian besar penelitian berfokus pada karang lunak, gorgonia dan hidroid laut (kelas: Hidrozoa) (Milanowsky dkk., 2004). Dari semua senyawa 84 % cnidaria dikumpulkan dari perairan tropis (sebagian besar dari Asia Tenggara dan Laut Karibia) dan sisanya 16 % sebagian besar menempati perairan beriklim (misalnya, negara-negara Eropa dan Jepang) (Rocha dkk., 2011). Salah satu kelas dalam filum cnidaria adalah hidrozoa. Hidroid merupakan anggota dari kelas Hidrozoa yang membentuk koloni dan terdiri dari banyak individu polip yang bersama-sama hidup membentuk organisme tunggal (Kambey, 2011).

2.1.1 Taksonomi *Aglaophenia cupressina* L.

Salah satu spesies hidroid adalah *Aglaophenia cupressina* L. dengan morfologi seperti daun cemara dan memiliki ciri khas berupa cairan lendir (mukus) gatal yang dikeluarkan sebagai pertahanan diri. Adapun taksonomi dari *Aglaophenia cupressina* L. menurut Zipcodezoo (2009) adalah sebagai berikut:

Filum: Cnidaria

Kelas: Hydrozoa

Ordo: Leptothecata

Famili: Aglaopheniidae

Genus: *Aglaophenia*

Spesies: *Aglaophenia cupressina* L.



Gambar 1. Hidroid *Aglaophenia Cupressina* L.

2.1.2 Morfologi

Hidrozoa memiliki struktur polipoid maupun struktur medusoid, dan beberapa spesies memiliki tahapan polipoid dalam siklus hidupnya (Rupert dan Barnes, 1994). Kelas hidrozoa terdiri atas hidra dan banyak macam spesies lainnya yang berkoloni yang dikenal sebagai hidroid. Hidrozoa tunggal seperti hidra tidak memiliki kerangka, sedangkan beberapa koloni

hidroid di mana polipnya bertumbuh langsung dari dasarnya hanya memiliki kerangka penahan. Namun kebanyakan hidroid dengan tinggi 3-10 cm memiliki kerangka luar yang menyerupai kitin yang dihasilkan oleh epidermisnya (Vilee, 1978).

Hidroid mendiami semua habitat laut dari perairan dangkal dan dalam yang memainkan peran penting dalam ekosistem laut. Hidroid sering ditemukan tumbuh di organisme laut lainnya, termasuk spons, karang laut, moluska, arthropoda dan alga (Tseng dkk., 2014).

2.2 Metabolit Sekunder

Proses biosintesis dan biodegradasi senyawa dalam organisme dengan bantuan enzim dikenal sebagai metabolisme. Jalur biosintetik (*biosynthetic pathways*) ini digunakan oleh makhluk hidup untuk memproduksi metabolit yang penting bagi kelangsungan hidup dan pertahanan dirinya (Murniasih, 2005). Metabolit sekunder merupakan bahan kimia alami yang ditemukan di alam dan dijadikan sebagai rujukan untuk pengembangan obat-obatan.

Metabolit sekunder tidak berperan pada proses pertumbuhan dan perkembangan kelangsungan organisme, namun memiliki fungsi strategis dalam menjaga keberlangsungan hidup organisme tersebut (Mannito, 1981), misalnya untuk proses evolusi (Bohlin dkk., 2009) dan sistem pertahanan diri (Wink, 2003). Metabolit sekunder pada invertebrata laut diasumsikan sebagai bentuk pertahanan kimiawi. Salah satu alasannya adalah adanya korelasi kuat antara tidak adanya mekanisme pertahanan fisik pada invertebrata dan adanya produksi bahan kimia unik dari mereka. Hewan laut dengan badan lembut dan tidak bergerak terbukti memiliki lebih banyak metabolit sekunder daripada hewan laut yang memiliki pelindung dan dapat bergerak bebas (Pawlik, 1993).

2.3 Senyawa Aktif Hidroid

Berbagai penelitian bahan alam laut berhasil mengisolasi senyawa-senyawa yang memiliki prospek sebagai antikanker (Schwartzmann, 2000), antibakteri (Blunt, 2005), antivirus (Goud dkk., 2003) dan antiinflamasi (Satari, 1996). Salah satu contohnya adalah tridentatol yang diisolasi dari hidroid, *T.marginata*. Senyawa ini sangat penting dalam melindungi *T.marginata* dari paparan radiasi UV yang mematikan (Johnson dkk., 1999).

Jenis senyawa lain yang juga telah diperoleh dari hidroid adalah steroid, terpenoid jenis seskuiterpen (Blunt, dkk., 2007), turunan asam lemak, antimikroba dan sitotoksik poliketida aromatik, β -carbolin, dithiocarbamat, dan piperidinol yang mengandung metabolit dengan aktivitas antifeedant (Milanowsky dkk., 2004).

Penelitian bahan alam laut saat ini difokuskan pada pencarian senyawa obat baru, seperti antikanker dan sitotoksik. Pengujian sifat antikanker dan sitotoksik dilakukan dengan pengujian isolat pada biakan sel kanker maupun dengan metode sederhana dengan menggunakan *brine shrimp* (Corgiat, 1993). Beberapa senyawa yang diisolasi dari organisme laut telah memberikan harapan bagi pengembangan obat baru untuk penyakit yang kini belum dapat disembuhkan (Fenical, 1996).

Data National Cancer Institute (NCI) Amerika Serikat, menunjukkan bahwa invertebrata laut merupakan sumber bahan alam yang sangat baik dan berpotensi untuk menghasilkan obat antikanker. Selama 40 tahun terakhir telah banyak penemuan obat dari bahan alam laut yang telah uji klinis untuk kanker (Rocha dkk, 2011).

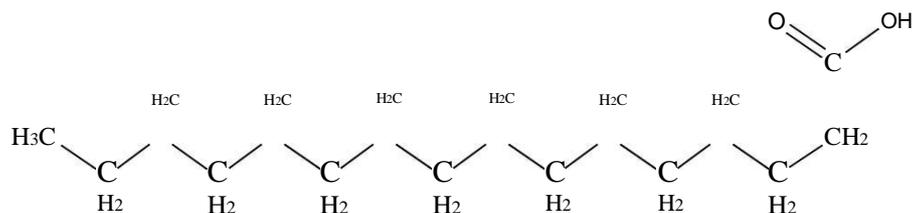
Senyawa bioaktif adalah senyawa kimia bahan alam yang mempunyai aktivitas biologi yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan. Senyawa ini terdapat secara luas di alam dan tidak terbatas, hingga saat ini penelusuran dan pencarian masih terus dilakukan. Banyak senyawa bioaktif berhasil diisolasi dari hewan maupun tumbuhan, berguna sebagai insektisida, peptisida, antifungi, antibakteri, dan antikanker. Bahkan beberapa diantaranya telah dijadikan molekul rujukan “*lead compound*” dalam industri pada dunia pertanian dan obat-obatan (Rachmaniar, 2003).

2.3.1 Senyawa Aktif Dari Hidroid *Aglaophenia cupressina* L.

Aglaophenia cupressina L. adalah salah satu spesies hidroid yang banyak di temukan di perairan Takalar dan kepulauan Spermonde Provinsi Sulawesi Selatan, dan diketahui menghasilkan metabolit sekunder bersifat racun alami yang dikenal sebagai *marine toxin* (Beress, 1982).

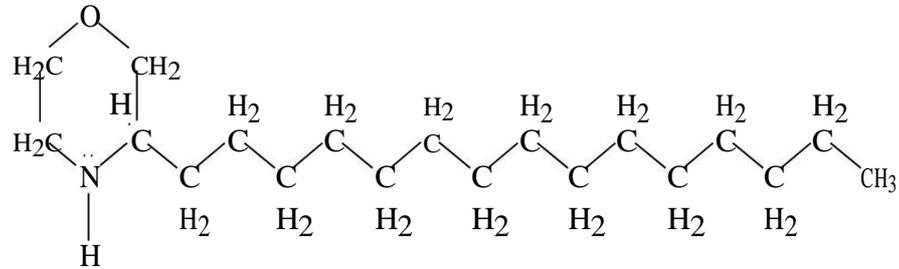
Johannes (2008) berhasil mengisolasi beberapa metabolit hidroid *Aglaophenia cupressina* L. dari fraksi n-heksan yang bersifat antibakteri, tiga golongan senyawa yang diperoleh yaitu:

1. Golongan asam karboksilat yaitu asam heksadekanoat berbentuk kristal putih kekuningan, dengan titik leleh 43 °C - 44 °C yang memiliki 16 karbon dan 32 atom hidrogen, dengan sifat toksisitas sangat tinggi LC₅₀ sebesar 29,54 µg/mL dan bersifat antibakteri



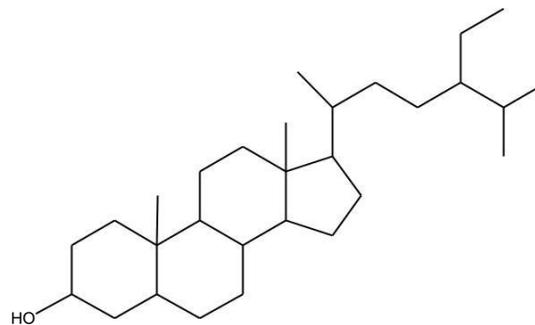
Gambar 2. Asam Heksadekanoat

2. Golongan senyawa alkaloid yaitu aglao E.Unhas, di duga senyawa baru. Berbentuk kristal putih, titik leleh 55 °C – 56 °C, yang memiliki 19 atom karbon dan 39 atom hidrogen, satu gugus NH dalam cincin heterosiklik, senyawa tersebut memiliki sifat toksisitas cukup tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 133 µg/mL dan bersifat antimikroba.



Gambar 3. Aglao E. Unhas

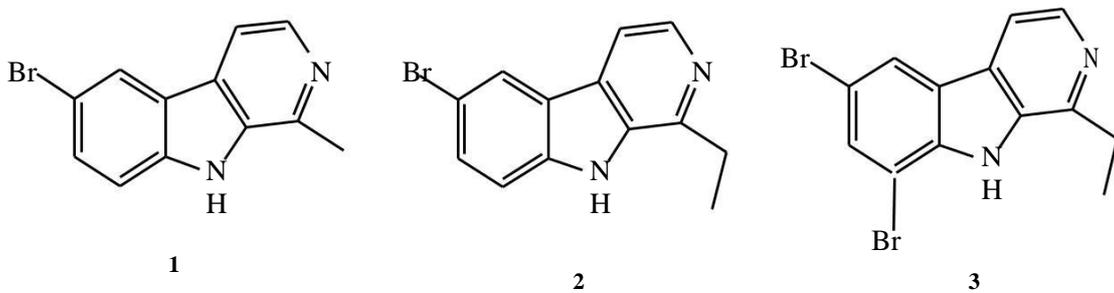
3. Golongan senyawa steroid yaitu β-sitosterol berbentuk Kristal putih (bening), titik leleh 138 °C – 139 °C, tidak memiliki sifat antimikroba..



Gambar 4. β-sitosterol

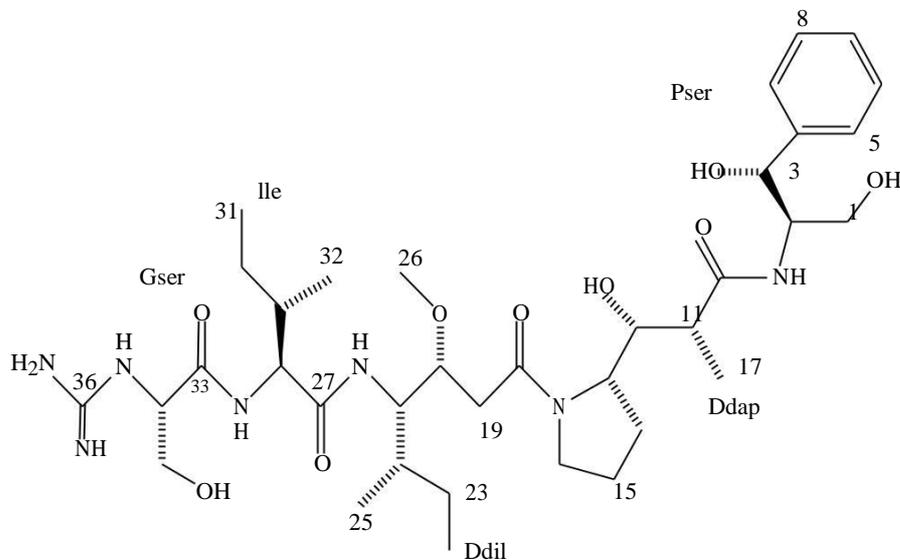
Selanjutnya Bendon (2013) berhasil mengisolasi metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat *Aglaophenia cupressina* L. sebanyak 3 mg. Hasil *screening* fitokimia dan spektrum IR menunjukkan isolat K termasuk ke dalam golongan senyawa alkaloid dan uji antibakteri menunjukkan isolat K cukup aktif terhadap *E. coli* dibandingkan dengan kloramfenikol, dengan rata-rata diameter zona hambat 13 mm.

Beberapa hidrozoa dari genus *Aglaophenia* juga telah berhasil diisolasi dan menghasilkan metabolit sekunder alkaloid. *Aglaophenia pluma* diketahui memiliki tiga jenis alkaloid dengan kerangka β -karbolin. Ketiga alkaloid tersebut antara lain (1) 6-bromo-1-metil- β -karbolin, (2) 6-bromo-1-etil- β -karbolin, dan (3) 6,8-dibromo-1-etil- β -karbolin (Aiello dkk, 1987).



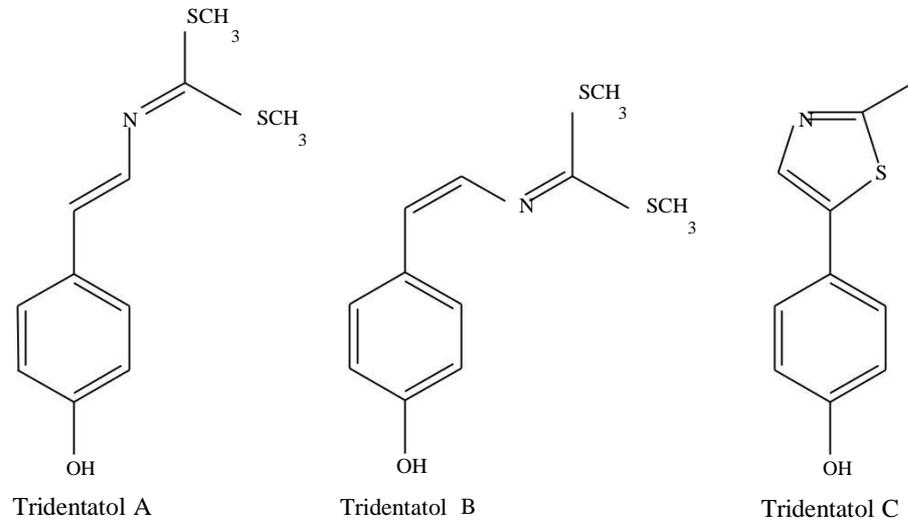
Gambar 5. Senyawa Murni yang Ditemukan dari Hidroid *A. pluma*

Hidroid *Gymnangium (Aglaophenia) regae* juga berhasil diisolasi dan menghasilkan senyawa Gymnangiamide yang terbukti aktif sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar 1,7 μ g/mL (Milanowsky dkk., 2004).



Gambar 6. Struktur Senyawa Gymnangiamide

Selanjutnya, Tridentatol juga berhasil diisolasi dari genus hidroid lain yaitu hidroid *Tridentata marginata* yang berperan sebagai antioksidan dan lebih potensial dari vitamin E (Johnson dkk., 1999).



Gambar 7. Struktur Senyawa Tridentatol

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal dengan konfigurasi seluler prokariotik (tidak mempunyai selubung inti). Bakteri dapat diklasifikasikan dengan berbagai cara. Salah satu klasifikasi yang paling sering digunakan adalah dengan menggunakan pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah prosedur mikrobiologi dasar untuk mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Pewarnaan gram ditemukan oleh H. C. J. Gram, seorang histologis pada tahun 1884 (Harniza, 2009).

Antibiotik umumnya didefinisikan sebagai senyawa organik alami dengan berat molekul kecil yang aktif melawan mikroorganisme pada konsentrasi yang rendah (Demain, 1999). Deteksi kemampuan antibiotik menjadi salah satu cara menguji bioaktivitas suatu metabolit sekunder. Antibiotik

yang aktif melawan bakteri disebut sebagai antibakteri. Antibakteri dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu bakteriostatik yang hanya menahan pertumbuhan koloni bakteri, dan bakteriosidal yang mampu membunuh koloni bakteri sepenuhnya (Pankey dan Sabbath, 2004).

Salah satu metode standar untuk antibakteri adalah metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Lethal Concentration* (MLC). MIC umumnya didefinisikan sebagai konsentrasi terendah antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi (Andrews, 2001), sedangkan MLC adalah konsentrasi minimum untuk membunuh inokulum yang telah ditetapkan terlebih dahulu persinya (biasanya 99,9 %) dalam waktu yang diberikan (Harniza, 2009).

Pemakaian antibakteri yang berlebihan dapat menyebabkan mikroba menjadi resisten. Oleh karena itu, senyawa antibakteri baru diperlukan untuk mengatasi resisten bakteri tersebut. Disamping itu juga perlu pengembangan antiseptik dan disinfektan baru yang lebih aman bagi kulit dan jaringan manusia (Hostetmann, 1991).

Beberapa metode uji bioaktivitas antibakteri dari ekstrak dapat dilakukan dengan tiga metode yaitu:

a) Metode difusi

Dengan metode difusi ini, ekstrak uji yang diserap dengan kertas saring dimasukkan ke dalam silinder atau dimasukkan ke dalam lubang, dikontakkan dengan media yang telah diinokulasi. Kemudian setelah diinkubasi, diameter daerah bening disekitar reservoir diukur. Diameter daerah bening ini merupakan daerah inhibisi dari ekstrak sampel terhadap mikroba uji. Untuk menurunkan limit deteksi, sistem dibiarkan pada suhu

rendah selama beberapa jam sebelum diinokulasi, yaitu untuk memberikan kesempatan kepada antibiotik untuk berdifusi sebelum mikroba tumbuh.

b) Metode pengenceran

Pada metode pengenceran, sampel yang akan diuji dicampur dengan medium yang cocok yang sebelumnya telah diinokulasi dengan mikroba uji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan mikroba dapat ditentukan dengan cara visual atau dengan perbandingan turbidimetri dari kultur uji dengan kultur kontrol. Kultur kontrol adalah kultur yang tidak diberi sampel yang akan diuji bioaktivitasnya.

c) Metode bioautografi

Metode untuk menentukan tempat (posisi) senyawa yang mempunyai aktivitas mikroba pada kromatogram. Caranya adalah dengan memindahkan senyawa uji dari kromatogram lapis tipis atau kertas ke medium agar yang sudah diinokulasi dengan mikroba uji. Daerah inhibisi kemudian dilihat dengan cara yang sesuai.

Menurut David Stout ketentuan kekuatan antibakteri terhadap suatu senyawa dapat dilihat pada Tabel 1 (Ardiansyah, 2005):

Tabel 1. Uji Daya Hambat Ekstrak Biota Laut Menurut Kategori David Stout

Zona Hambat	Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
> 20 mm	Sangat Kuat

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L. yang diperoleh dari Departemen Biologi dalam bentuk spesimen yang sudah diidentifikasi secara taksonomi, bakteri uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, metanol p.a, DCM (diklorometan), kloroform p.a, etil asetat p.a, n-heksana p.a, asam asetat anhidrat, H₂SO₄, akuades, es batu, plastik wrap, *aluminium foil*, *tissue roll*, kertas saring *Whatman* no 42, plat KLT, dimetilsulfoksida (DMSO), ampicilin, nutrien agar.

3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain corong pisah, statif dan klem, alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, alat destilasi, *chamber* untuk wadah KLT, pipa kapiler untuk penotol, inkubator, jangka sorong, spektrofotometer UV, jarum ose, autoklaf, inkubator, oven, penangas air, mikropipet, pipet volumetri, spatula, botol semprot, batang pengaduk, sendok tanduk, botol vial, alat-alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Mikrobiologi, *stirrer*, alat kolom kromatografi KKV, dan KKT untuk fraksinasi, alat instrumentasi seperti lampu UV 254-365 nm, neraca analitik Ohaus AP-110, alat evaporasi BUCHI Rotavapor R-200, alat penentuan titik leleh *Melting Point* Apparatus, spektroskopi FTIR Prestige-21 Shimadzu dan NMR 300 MHz Br

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 – Oktober 2017 di Laboratorium Organik, Laboratorium Kimia Terpadu, Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia Universitas Hasanuddin, Laboratorium Pengembangan Sains Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Laboratorium SATREPS ITD Universitas Airlangga.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan adalah Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L. dari pulau Samalona, yang selanjutnya dikeringkan hingga diperoleh Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L. kering.

3.4.2 Ekstraksi dan Isolasi Hidroid *Aglaophenia Cuppresina*

Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* ditimbang sebanyak 750 gram diekstraksi dengan metanol selama 1 x 24 jam sebanyak 4 kali. Ekstrak tersebut disaring dengan kertas saring Whatman No 42. Filtrat dari penyaringan ini dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu rendah 40-50 °C maka akan diperoleh ekstrak kental metanol.

3.4.3 Fraksinasi Ekstrak Diklorometan (DCM)

Ekstrak kental metanol di suspensikan dalam air dan diekstraksi dengan diklorometan (DCM) 50 mL sebanyak 3 kali, untuk menghasilkan fraksi air dan fraksi DCM. Fraksi DCM kemudian dikeringkan dan dilarutkan dengan MeOH 90 %. Selanjutnya diekstraksi dengan n-Heksan 50 mL sebanyak 3 kali dan dipisahkan fraksi Heksan dan Fraksi metanol. Fraksi metanol kemudian

dikeringkan dan dilarutkan kembali dengan MeOH 50 %. Selanjutnya fraksi MeOH 50 % ini diekstrak dengan DCM 50 mL sebanyak 3 kali untuk menghasilkan dua fraksi yaitu fraksi methanol/air dan fraksi DCM. Fraksi DCM yang diperoleh kemudian dicari eluen yang sesuai dengan menggunakan KLT. Setelah diperoleh eluen yang sesuai kemudian difraksinasi KKV dan KKT dan akan diperoleh fraksi DCM murni Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L.

3.4.4 Identifikasi

Pada tahap ini senyawa murni yang diperoleh diuji kemurniannya dengan mengukur titik leleh, uji golongan dan elusidasi struktur senyawa murni melalui analisis data spektroskopi IR, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$.

3.4.5 Pengujian Aktivitas Antibakter

3.4.5.1 Pembuatan Medium Nutrien Agar

Nurient agar ditimbang sebanyak 5,75 gram dalam gelas kimia dan dilarutkan dengan akuades hingga volume 250 mL kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *stirrer* diatas penangas air. Setelah itu dimasukkan kedalam beberapa tabung reaksi. Posisikan rabung reaksi dalam posisi miring 45° dan di sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.5.2 Penyiapan Biakan Bakteri Uji

Sebanyak 1-2 ose masing-masing bakteri uji *E.coli* dan *S.aureus* diinokulasi ke dalam *Nutrient Agar Miring* secara aseptis, lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

3.4.5.3 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol yang digunakan adalah ampisilin sebagai kontrol positif yang diambil sebanyak 250 mg dan dilarutkan dalam 20 ml DMSO. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif.

3.4.5.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar, yaitu dengan menggunakan media agar *Nutrien Agar* (NA). Media NA pada cawan petri digoreskan bakteri uji. Selanjutnya, *paper disc* dengan diameter 5 mm dicelupkan kedalam sampel kemudian dikibaskan hingga tidak ada cairan sampel yang menetes. Perlakuan kontrol (kontrol positif; Ampicilin dan kontrol negatif: DMSO) dikerjakan seperti sampel. *Paper disc* yang mengandung sampel, kontrol positif, dan negatif diletakkan di atas permukaan media. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24, 48 dan 72 jam. Pengukuran dilakukan pada ukuran zona bening yang terbentuk disekitar *Paper disc* dengan menggunakan jangka sorong.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penyiapan dan Pengolahan Sampel

Sampel hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L. dicuci dan dikeringkan untuk mengeluarkan kandungan air dalam sampel dan ditimbang. Berat sampel yang diperoleh sebanyak 750 gram. Sampel hidroid dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L.

4.2 Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel yang telah kering kemudian dimasukkan dalam wadah untuk dimaserasi. Proses maserasi dilakukan dengan merendam sampel menggunakan metanol selama 4x24 jam. Hasil maserasi disaring dan filtratnya ditampung dalam sebuah botol dan selanjutnya diganti dengan metanol yang baru serta diulangi sampai 4 kali. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan hingga menghasilkan ekstrak kental metanol sebanyak 16,57 gram.

Ekstrak kental metanol ini selanjutnya di suspensikan dalam air dan diekstraksi dengan diklorometan (DCM) 50 mL sebanyak 3 kali, untuk menghasilkan fraksi airdan fraksi DCM. Selanjutnya fraksi DCM dikeringkan

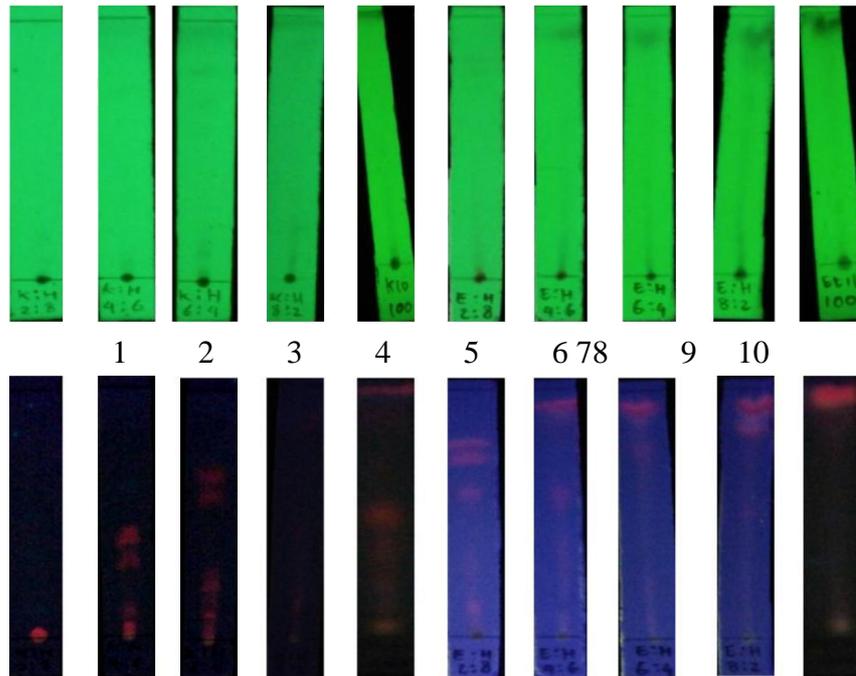
dan dilarutkan dengan MeOH 90%, kemudian diekstraksi dengan n-Heksan 50 mL sebanyak 3 kali dan diperoleh fraksi Heksan dan Fraksi metanol. Fraksi metanol selanjutnya dikeringkan dan dilarutkan kembali dengan MeOH 50%. Fraksi MeOH 50% ini kemudian diekstrak dengan DCM 50 mL sebanyak 3 kali untuk menghasilkan dua fraksi yaitu fraksi methanol/air dan DCM. Fraksi DCM kemudian diuapkan dan diperoleh fraksi DCM kental berwarna coklat kehitaman sebanyak 736,6 mg yang dapat di lihat pada Gambar 9.



Gambar9. Fraksi DCM hidroid *Aglaophenia Cupressina L.*

4.3 Isolasi

Tahapan isolasi diawali dengan proses kromatografi kolom yang sebelum dimulai dilakukan proses kromatografi, dilakukam pemilihan eluen atau fase gerak untuk proses pemisahan. Dalam penelusuran komposisi eluen digunakan KLT Silika gel 60 F254 dan sebagai pelarut pengelusi adalah n-heksana, kloroform dan etil asetat. Hasil penelusuran komposisi eluen dapat dilihat pada Gambar 10.



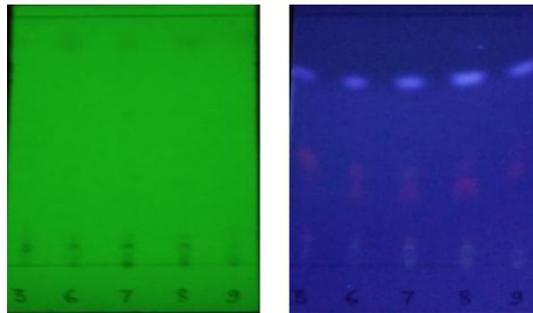
Gambar 10. Hasil Penelusuran Komposisi Eluen.

Keterangan :

No.	Komposisi eluen	Perbandingan komposisi eluen (%)
1	n-Heksana : Kloroform	8 : 2
2	n-Heksana : Kloroform	6 : 2
3	n-Heksana : Kloroform	4 : 6
4	n-Heksana : Kloroform	2 : 8
5	Kloroform	100
6	n-Heksana : Etil Asetat	8 : 2
7	n-Heksana : Etil Asetat	6 : 2
8	n-Heksana : Etil Asetat	4 : 6
9	n-Heksana : Etil Asetat	2 : 8
10	Etil Asetat	100

Berdasarkan Gambar 10 terlihat bahwa dalam penelusuran komposisi eluen digunakan tiga pelarut mulai dari yang bersifat nonpolar kemudian dilanjutkan dengan yang lebih polar, serta kombinasi dari dua pelarut tersebut. Selanjutnya dilakukan pemisahan dengan menggunakan KKV yang bertujuan untuk memperoleh kelompok senyawa yang lebih sederhana. Pengelompokan

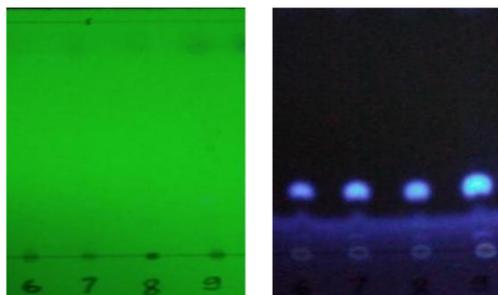
tersebut didasarkan pada perbandingan eluen yang telah dipilih. Tahap ini menghasilkan 17 fraksi dan yang memiliki noda yang mirip atau hampir sama pada plat KLT digabungkan. Setelah dianalisis menggunakan KLT diperoleh satu isolat atau kelompok fraksi seberat 69,7 mg yang merupakan hasil gabungan dari fraksi 5-9. Hasil analisis KLT fraksi 5-9 dari tahap KKV dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar11. Analisis KLT fraksi 5-9 dari tahap KKV

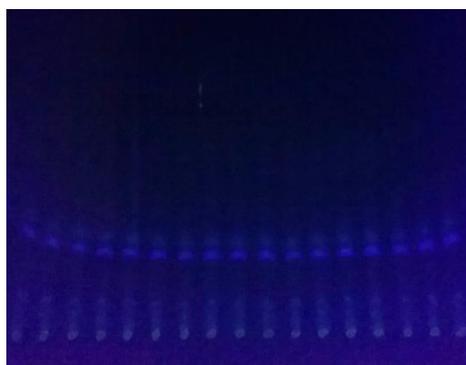
Pada fraksi 5-9 dielusi dengan eluen n-heksana kloroform dengan perbandingan 7:3. Berdasarkan bentuk dan komposisi noda yang dihasilkan fraksi 5-9 memiliki kemiripan atau mempunyai pola noda yang hampir sama dan dilakukan pemurnian lebih lanjut.

Isolat dari hasil KKV sebanyak 69,7 mg berbentuk amorf berwarna kuning, dipurifikasi lanjutan menggunakan teknik kromatografi kolom tekan (KKT) dengan n-heksana : kloroform sebagai eluen (100, 9:1, 8:2, 7,3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9). Fraksi-fraksi yang memiliki noda yang mirip atau hampir sama pada plat KLT digabungkan. Setelah dianalisis dengan KLT diperoleh satu isolat atau satu kelompok fraksi dengan berat 35,6 mg yang merupakan hasil gabungan dari fraksi 6-9. Hasil analisis KLT fraksi 6-9 dari tahap KKT dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Analisis KLT fraksi 6-9 dari tahap KKT

Pada tahap selanjutnya dilakukan KLT preparatif dengan pelarut yang sama yaitu n-heksanakloroform (5:5). Hasil analisis KLT preparatif dapat dilihat pada Gambar 13.



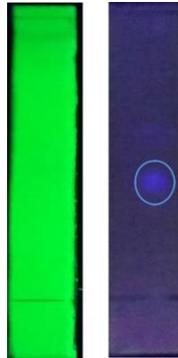
Gambar 13. Analisis KLT Preparatif.

Hasil dari KLT preparatif disaring dengan menggunakan pelarut kloroform dan direkristalisasi. Kemudian disaring untuk mendapatkan kristalnya. Hasil rekristalisasi dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Hasil rekristalisasi.

Kemudian dilakukan KLT lagi untuk memastikan kemurniannya, dan didapatkan hanya ada satu nodayang tampak pada *UV-longwave*, berbentuk padatan putih sebanyak 9 mg. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Hasil KLT Fraksi Menghasilkan Satu Noda Tunggal.

Uji kemurnian dilakukan dengan analisis KLT dua dimensi dan pengukuran titik leleh. Adapun hasil dari KLT dua dimensi dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Hasil KLT 2 Dimensi

Noda tunggal pada Gambar 15 diatas menunjukkan bahwa Kristal yang dihasilkan merupakan isolat murni. Pengujian titik leleh terhadap kristal ini menghasilkan titik leleh sebesar 134-135 °C. Dari data ini dapat dikatakan bahwa kristal yang dihasilkan telah murni karena rentang nilai titik lelehnya hanya berselisih 1 (satu) derajat. Isolat murni tersebut selanjutnya dinyatakan sebagai senyawa 1.

4.4 Identifikasi

Tahap identifikasi dilakukan dengan pengukuran titik leleh, uji fitokimia dan analisis spektroskopi menggunakan instrumen FTIR, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$.

4.4.1 Uji Fitokimia

Senyawa 1 merupakan kristal berwarna putih dengan noda tunggal yang tampak pada *UV-longwave*. Pada analisis golongan senyawa 1 memberikan warna biru pekat setelah penambahan asam asetat anhidrat dan H_2SO_4 yang menunjukkan reaksi positif sebagai senyawa steroid seperti terlihat pada Gambar 17.

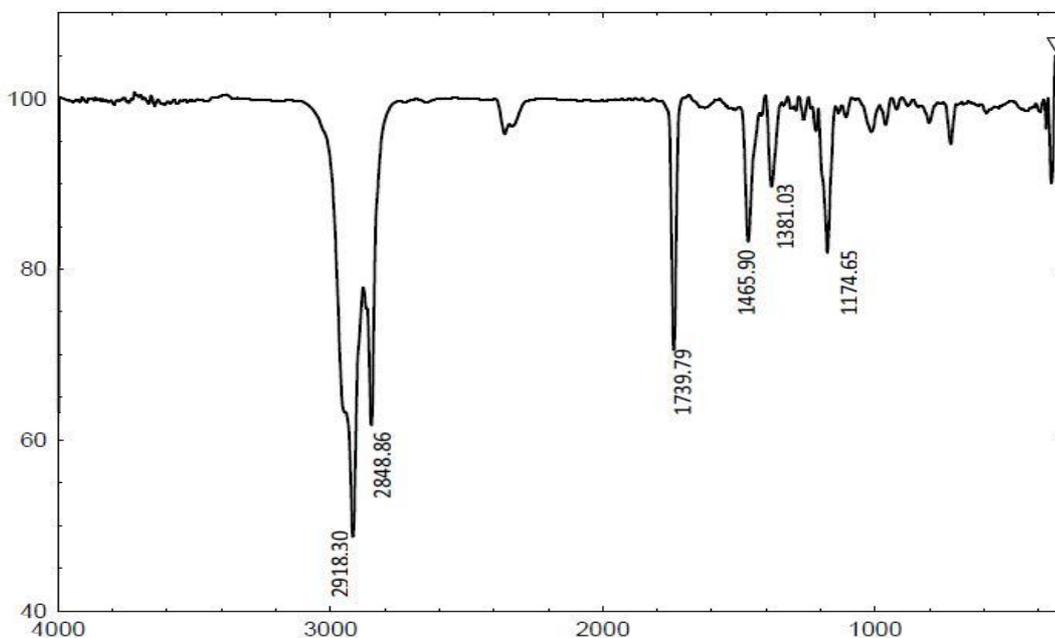


Gambar 17. Hasil Uji Fitokimia Senyawa 1.

4.4.2 *Fourier Transform Infra Red (FTIR) Spectroscopy*

Spektrum IR pada dasarnya bersifat spesifik untuk setiap senyawa organik yaitu setiap senyawa akan memperlihatkan komposisi dan pola pita-pita serapan yang berbeda berdasarkan perbedaan kandungan gugus fungsionalnya. Meski demikian FTIR tidak dapat digunakan untuk menentukan struktur suatu molekul tanpa dukungan instrumen lain. Spektrum IR lebih sering digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan gugus fungsi yang memiliki pita spesifik yang

menonjol, yaitu: C=O, O-H, N-H, C-O, C=C, C≡N, dan NO₂. Gambar 18 menunjukkan pola serapan FTIR gugus-gugus fungsi dari senyawa 1.



Gambar 18. Hasil Identifikasi Spektrofotometer FTIR pada Senyawa 1.

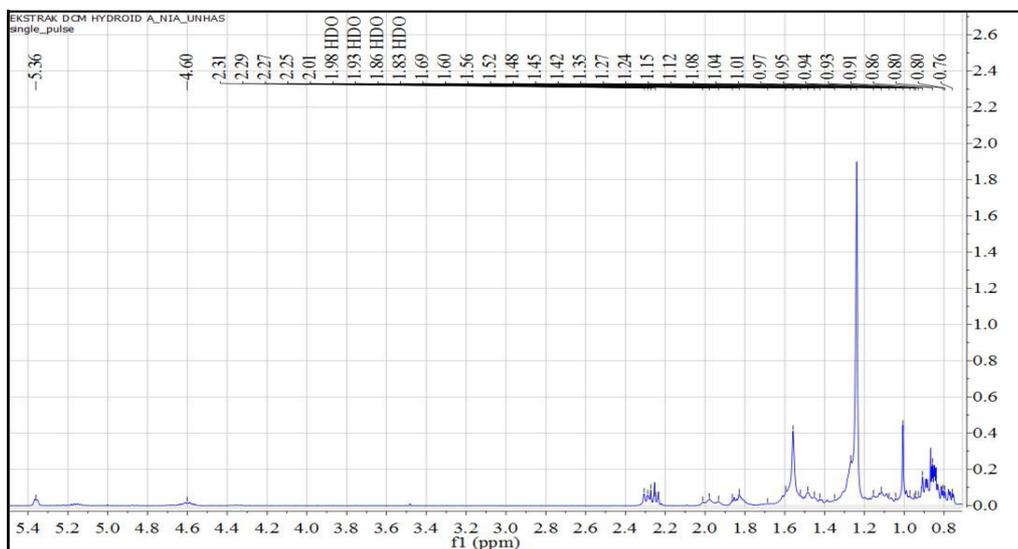
Penyerapan pada spektrum FTIR di atas memperlihatkan pita serapan pada daerah 2918,30 cm⁻¹ dan 2848,86 cm⁻¹ menunjukkan adanya C-H alifatik yang juga didukung oleh serapan pada 1465,90 cm⁻¹ dan 1381,03 cm⁻¹ masing-masing adalah CH₂ dan CH₃. Selanjutnya serapan pada 1739,79 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya C=O dan 1174,65cm⁻¹ menunjukkan adanya C-O.

4.4.3 Nuclear Magnetic Resonance Proton (¹H NMR)

¹H NMR digunakan untuk menentukan jumlah atom H dalam suatu senyawa. Nilai pergeseran kimia, spin-spin *splitting* dan konstanta kopling merupakan nilai-nilai yang harus dilihat. Nilai-nilai tersebut juga memberikan petunjuk mengenai perbedaan lingkungan suatu atom hidrogen di dalam molekul. Pada pengukuran suatu senyawa digunakan senyawa standar yang ditambahkan dalam larutan senyawa yang akan diukur, dan frekuensi resonansi setiap proton

dalam cuplikan diukur relatif terhadap frekuensi resonansi dari proton-proton senyawa standar. Salah satu senyawa standar yang digunakan adalah tetrametilsilan ($(\text{CH}_3)_4\text{Si}$) yang disebut TMS. Senyawa ini dipilih karena proton-proton dari gugus metil jauh lebih terlindungi bila dibandingkan dengan kebanyakan senyawa cuplikan.

Inti atom yang mempunyai nilai geseran kimia (δ) daerah rendah (dekat TMS) disebut *high shielded field* (daerah medan magnet tinggi), sedangkan daerah makin jauh dari TMS disebut *low shielded field* (daerah medan rendah). Pergeseran kimia diberi simbol δ , yang menyatakan bilangan untuk menunjukkan sejauh mana resonansi proton digeserkan dari standar atau TMS dengan satuan ppm terhadap frekuensi spektrometer yang dipakai. Hasil spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa 1 dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Hasil Identifikasi Senyawa 1 dengan Menggunakan $^1\text{H-NMR}$

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa 1 memperlihatkan sinyal proton yang khas diantaranya proton pada daerah $\delta 5,35$ ppm (H-6, 1H, s) mengindikasikan adanya gugus olefin ($\text{C}=\text{C}$) yang terikat dengan karbon kuartener, hal ini ditunjukkan dari nilai geseran kimia yang lebih besar, sinyal proton pada $\delta 4,60$ ppm (H-3, 1H, m) mengindikasikan adanya proton yang berasal dari gugus oksikarbon ($-\text{OCH}$).

Selain itu sinyal proton pada δ 2,01 ppm (H-31, 3H, *s*) mengindikasikan adanya proton yang berasal dari karbon yang berikatan langsung dengan gugus karbonil. Adapun perbandingan $^1\text{H-NMR}$ senyawa 1 dengan $^1\text{H-NMR}$ β -Sitosterol asetat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan $^1\text{H-NMR}$ Senyawa 1 dengan $^1\text{H-NMR}$ β -Sitosterol Asetat

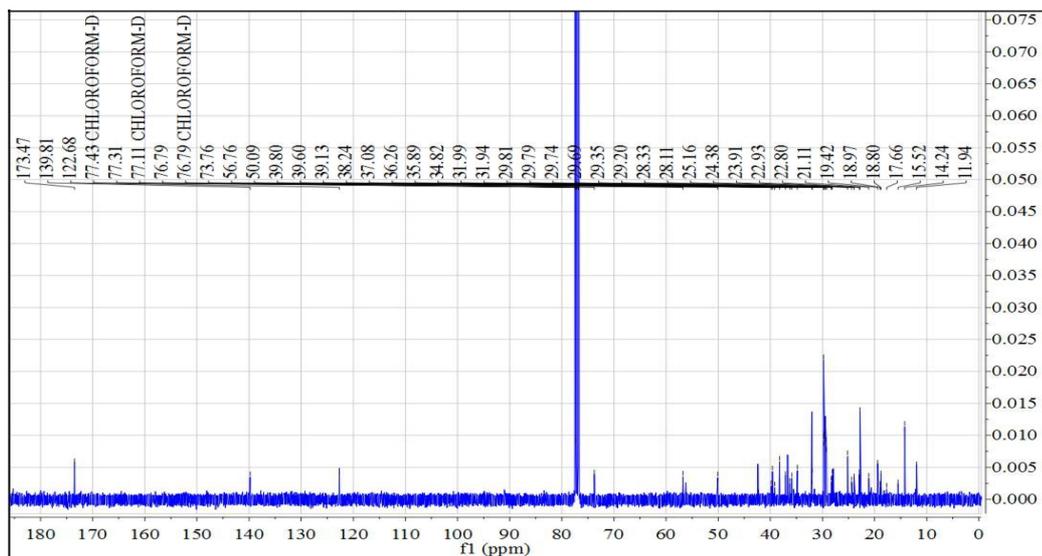
Posisi C	δ^{H} senyawa 1	δ^{H} Pierre, 2015	δ^{H} Prakash, 2012	δ^{H} Chem NMR
1	-	-	-	1,05
2	-	-	-	1,52
3	4,60 (dt, 1H)	3,53 (m, 1H)	3,53 (tdd, 1H)	4,60
4	-	-	-	2,21
5	-	-	-	0
6	5,36 (s, 1H)	5,38 (s, 1H)	5,36 (t, 1H)	5,27
7	-	-	-	1,94
8	-	-	-	1,27
9	-	-	-	1,17
10	-	-	-	0
11	-	-	-	1,38
12	-	-	-	1,31
13	-	-	-	0
14	-	-	-	1,04
15	-	-	-	1,90
16	-	-	-	1,9
17	-	-	-	1,24
18	0,86 (s, 3H)	0,89 (d, 3H)	-	0,84
19	-	-	-	1,01
20	-	-	-	2,08
21	0,97 (d, 3H)	1,20 (d, 3H)	0,93 (d, 3H)	0,95
22	1,24 (t, 2H)	-	-	1,19
23	1,24 (t, 2H)	-	-	1,19
24	-	-	-	1,88
25	-	-	-	1,63
26	0,80 (d, 3H)	0,84 (d,3H)	0,83 (s, 3H)	0,83
27	-	-	-	0,83
28	-	-	-	1,44
29	1,01 (t, 3H)	1,04 (t, 3H)	1,01 (s, 3H)	1,01
30	-	-	-	0
31	2,01 (s, 3H)	-	-	2,02

4.4.4 Nuclear Magnetic Resonance Carbon (^{13}C -NMR)

Spektroskopi ^{13}C -NMR pada hakikatnya merupakan pendukung ^1H -NMR dan kombinasi kedua alat tersebut memberikan data yang lebih baik bagi proses penentuan struktur. ^{13}C -NMR memberikan petunjuk mengenai berbagai jenis C yang memiliki pergeseran kimia yang berbeda satu sama lain. Selain itu karbon juga dapat berinteraksi dengan proton yang terikat padanya dan menyebabkan terjadinya splitting yang menunjukkan puncak $(n + 1)$, $n =$ jumlah H, oleh karena itu sinyal masing- masing karbon dari:

1. Karbon metil ($\text{CH}_3\text{-C}$) akan muncul 4 puncak
2. Karbon metilen ($\text{-CH}_2\text{-}$) akan muncul 3 puncak
3. Karbon metil (-CH-) akan muncul 2 puncak

Hasil analisis spektrum ^{13}C -NMR dari senyawa 1 yang dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar20. Hasil Identifikasi Senyawa 1 dengan Menggunakan ^{13}C -NMR

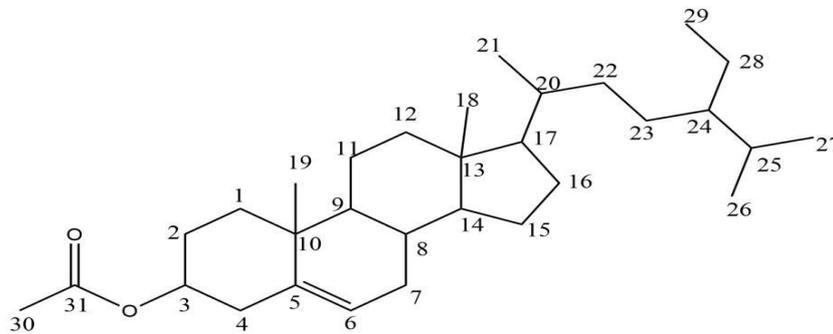
Analisis data spektroskopi ^{13}C -NMR senyawa 1 memperlihatkan beberapa sinyal karbon. Adapun geseran kimia, δ (ppm) sinyal-sinyal karbon tersebut dapat dilihat pada Tabel 3. Sinyal ini terdiri atas satu oksikarbon (C-O) pada

geseran kimia δ 73,76 ppm dan sinyal karbon sp^2 pada geseran di atas 100 ppm yang berasal dari 2 karbon alkena yaitu pada daerah 122,68 ppm dan 139,81 ppm. Kemudian sinyal karbon (C=O) pada geseran kimia δ 173,47 ppm.

Tabel 3. Perbandingan ^{13}C -NMR Senyawa 1 dengan ^{13}C -NMR β -Sitosterol Asetat

Posisi C	δ_c NMR Senyawa 1	δ_c Pierre, 2015	δ_c Prakash, 2012	δ_c Chem NMR
1	37,08	36,72	37,5	37,2
2	31,93	29,71	31,9	31,7
3	73,76	71,97	72,0	71,6
4	42,38	42,35	42,5	41,8
5	139,80	140,94	140,9	140,8
6	122,67	121,32	121,9	121,8
7	32,02	31,71	32,1	32
8	31,93	29,24	32,1	31,8
9	50,08	50,03	50,3	50,8
10	36,68	36,16	36,7	37,7
11	21,11	24,32	21,3	21,1
12	39,79	39,82	39,9	39,9
13	42,38	42,1	42,6	43
14	56,76	56,9	57,1	56,9
15	25,16	24,32	26,3	26,4
16	28,32	28,9	28,5	28,6
17	56,18	56,03	56,3	56,4
18	11,94	12,06	12,0	12,0
19	19,42	19,06	19,0	19,3
20	36,26	36,82	36,3	36,1
21	19,42	19,06	19,0	19,3
22	34,8	34,0	34,2	33,9
23	25,15	26,3	26,3	26,4
24	50,01	46,26	46,1	46,1
25	29,80	30,01	29,4	30,4
26	21,11	21,12	20,1	21,0
27	21,11	21,12	19,6	21,0
28	23,91	23,32	23,3	23,2
29	11,94	12,06	12,2	12,2
30	21,11	-	-	21,0
31	173	-	-	171

Berdasarkan semua data yang diperoleh dari hasil identifikasi dengan fitokimia, titik leleh, FTIR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR maka diduga bahwa struktur senyawa yang telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L. fraksi Diklorometan dapat digambarkan seperti dibawah ini.



Gambar 21. Struktur Senyawa β -sitosterol Asetat yang Telah Berhasil Diidentifikasi dari Hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L.

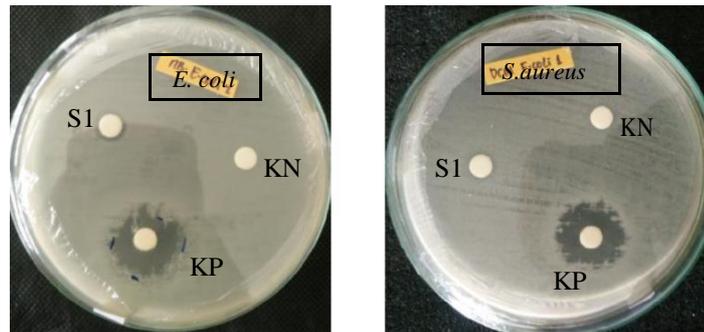
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengukuran diameter hambatan dari Senyawa 1 hasil isolasi ekstrak diklorometan hidroid *Aglaophenia Cuppresina* L. terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* setelah diinkubasi 3x24 jam menghasilkan data yang tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengukuran Daya Hambat Senyawa 1, Kontrol Positif, dan Kontrol Negatif Terhadap bakteri Uji.

Jenis Bakteri	Waktu Inkubasi	Diameter Zona Hambat (mm)		
		Senyawa 1	KN (-)	KP (+)
<i>E. coli</i>	24 Jam	9,45	-	16,75
	48 Jam	10,25	-	17,45
	72 Jam	11,50	-	18,25
<i>S. aureus</i>	24 Jam	6,25	-	15,25
	48 Jam	7,40	-	16,31
	72 Jam	8,15	-	17,10

Hasil pengukuran diameter zona hambatan terhadap bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan bahwa bioaktivitas senyawa 1 setiap hari mengalami peningkatan, hal ini dikarenakan masih terjadinya reaksi antara senyawa aktif dan bakteri uji tersebut. Adapun zona hambat yang terbesar tampak setelah diinkubasi selama 3x24 jam, yaitu menghasilkan diameter hambatan sebesar 11,50 mm pada bakteri uji *E. coli* dan 8,15 mm pada bakteri uji *S. aureus*. Zona hambatan dari senyawa 1 dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Daya Hambat dari Senyawa 1 Terhadap Bakteri Uji *E. coli* (kiri) dan *S. aureus* (kanan) pada inkubasi 3x24 jam.

Adapun perbedaan aktivitas antibakteri senyawa 1 terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dikarenakan adanya perbedaan sifat sel. *E. coli* sebagai bakteri gram negatif dan *S. aureus* sebagai gram positif. Bakteri gram negatif dan gram positif mempunyai dinding sel yang berbeda sensitifitasnya terhadap perlakuan enzim, fisik dan antibiotik (Silvia dkk., 2015). Perbedaan besarnya zona hambat juga dapat diakibatkan karena perbedaan reaksi antara bahan aktif dengan bakteri tersebut. Pelczar dan Chan (1988) mengemukakan bahwa yang menyebabkan terjadinya penghambatan oleh antimikroba karena adanya gangguan terhadap membran sel mikroba, menghambat kerja enzim, mengganggu sintesis protein dan asam nukleat, ataupun menghambat sintesis dinding sel. Savage (2002) juga

mengemukakan bahwa senyawa steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran sel berubah dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel rapuh.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian terhadap fraksi diklorometan dari hidroid *Aglaophenia Cuppressina* L. telah berhasil diisolasi Senyawa 1, sebanyak 9 mg, berbentuk kristal putih dan memiliki titik leleh 134-135 °C, yang merupakan metabolit sekunder golongan steroid. Dari hasil pengujian spektrosopi (FTIR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR), senyawa 1 tersebut diduga adalah β-Sitosterol asetat. Senyawa ini diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambat sebesar 11,50 mm dan 8,15 mm terhadap bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*.

5.2 Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat menggunakan ekstrak dan uji bioaktivitas yang lain seperti antikanker atau anti inflamasi serta analisis spektroskopi NMR dua dimensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aeny, R., 2017, Studi Kimia Metabolit Sekunder Fraksi Diklorometan Jintan Putih (*Cuminum cyminum* L.) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Enterobacter cloacae*, Skripsi tidak di terbitkan, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Aiello, A., Fattorusso, E., Magno, S., and Mayol, L., 1987, Brominated β Carbolines From The Marine Hydroid *Aglaophenia Pluma* Linnaeus, *Tetrahedron*, **43** (24): 5929-5932.
- Andrews, J. M., 2001, Determination of Minimum Inhibitory Concentrations, *J. Antimicrob. Chemother.* **48**: 5-16.
- Ardiansyah, 2005, *Daun Beluntas Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*, Artikel Iptek - Bidang Biologi, Pangan, dan Kesehatan.
- Bendon, Y.T., 2013, *Isolasi dan Identifikasi Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat dari Hydroid Aglaophenia cupressina L.*, Skripsi tidak di terbitkan, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Beress, Laszlo, 1982, Biologically Active Compounds From Coelenterates, *Pure & Appl. Chem.* **54** (10): 1981-1994.
- Blunt, J. W., Copp, B. R., Hu, Wan-Ping, Munro, M. H. G., Northcote, P. T., dan Prinsep, M. R., 2007, Marine Natural Products, *Nat. Prod. Rep.* **24**: 31-86.
- Bohlin, L., Göransson, U., Alsmark, C., Wedén, C. dan Backlund, A., 2010, Natural Products in Modern Life Science, *Phytochem Rev.* **9**(2): 279-301.
- Corgiat, J. M., 1993, Marine Natural Products Chemistry: Investigation in Marine Ecology and Structure Determination, dissertation, University of Hawaii.
- Daly, M., Brugler, M. R., Cartwright, P., Collins, A. G., Dawson, M. N, Fautin, D. G., France S. C., McFadden, C. S, Opresko, D. M., Rodriguez, E., Romano, S. L., dan Stake. J. L., 2007, The Phylum Cnidaria: A Review of Phylogenetic patterns and Diversity 300 Years After Linnaeus, *Zootaxa* 1668: 128.
- Demain, A. L., 1999, Pharmaceutically Active Secondary Metabolites of Microorganisms, *Appl. Microbiol. Biothechnol.* **52** : 455 – 463.
- Fenical, W., 1996, Marine Biodiversity and the Medicine Cabinet – The Status of New Drugs from Marine Organisms, *Oceanography*, **9**(1): 23- 27.

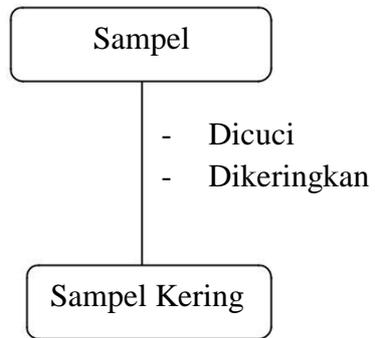
- Goud, T. V., Reddy, N. S., Swamy, N. R., Ram, T. S., dan Venkateswarlu, Y., 2003, Anti-HIV Active Petrosin from the Marine Sponge *Petrosia similis*, *Biol. Pharm. Bull.* **26**(10): 1498-1501
- Haefner, B., 2003, Drugs From the Deep: Marine Natural Products As Drug Candidates, *Research Focus*, **8**: 536-544.
- Handayani, D., Sayuti, N., dan Dachriyanus, 2008, *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epidioksi Sterol dari Spons Laut Petrosia Nigrans, Asal Sumatra Barat*, Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi-II, Universitas Lampung, 17-18 November 2008.
- Harniza, Y., 2009, *Pola Resistensi Bakteri yang Diisolasi Dari Bangsal Bedah Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo Pada Tahun 2003-2006*, Skripsi Tidak Diterbitkan, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Hosettman, K., 1991, *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press, New York.
- Johannes, E., Ishak, E., Usman, H., and Bilang, M., 2013, Effectiveness Of Extracted Antibacterial Compound From Hydroid *Aglaophenia Cupressina* Lamoureaux Against Bacterial Cell Of Escherichia Coli, *International Journal of Scientific & Technology Research*, **2**(2): 138-143.
- Johnson, M.K., Alexander, K.E., Lindquist, N., and George, L., 1999, Potent antioxidant activity of a dithiocarbamate-related compound from a marine hydroid, *Biochemical Pharmacology*, **8**: 1313-1319.
- Kambey, A.D., 2011, Moluska Pada Hidroid (*Aglaophenia cupressina*) di Perairan Barat Pulau Siladen Manado Sulawesi Utara, *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*, **7**(1): 17-20.
- Lubbock, R., 1979, Chemical Recognition and Nematocyte Excitation In A Sea Anemone, *J. exp. Bio.*, (**83**): 283.
- Mannito, P., 1981, *Biosynthesis of Natural Products*, Ellis Harwood Ltd., Chichester, UK.
- Milanowski, D.J., Gustafson, K.R., Rashid, M.A., Pannell, L.K., 2004, Gymnangiamide, a Cytotoxic Pentapeptide from the Marine Hydroid *Gymnangium regae*, *J. Org. Chem*, **69** (9); 3036-3042.
- Murniasih, T., 2005, Substansi Kimia Untuk Pertahanan Diri Untuk Hewan Tak Bertulang Belakang, *Oseana*, **1**(2), 19-27

- Nursid, M., Wikata, T., Fajarningsih, N. D., dan Marraskuranto, E., 2006, Aktivitas Sitotoksik, Induksi Apoptosis dan Ekspresi Gen p53 Fraksi Metanol Spons *Petrosia cf. nigricans* terhadap Sel Tumor Hela, *Jurnal Pascapanan dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, **1** (2).
- Pankey, G. A., dan Sabbath, L. D., 2004, Clinical Relevance of Bacteriostatic Versus Bactericidal Mechanism of Action in the Treatment of Gram Positive Bacterial Infections, *Clin. Infec. Dis.* **38**: 864- 870.
- Pawlik, J. R., 1993, Marine Invertebrate Chemical Defenses, *Chem. Rev.* 1993 (**93**): 1911-1922.
- Pelczar, M.J., Chan ECS., 1988, *Dasar-dasar mikrobiologi 2*. Diterjemahkan oleh Hadi oetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta, Penerbit Universitas Indonesia.
- Pierre, L. L., dan Moses, M. N., 2015, Isolation and Characterisation of Stigmasterol and β -Sitosterol from *Odontonema Strictum* (Acanthaceae), *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, **2**(1), 88-95.
- Prakash, I., and Chaturvedula, V. S. P., 2012, Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the Dichloromethane Extract of *Rubus suavissimus*, *Internatioanal Current Pharmaceutical Journal*, **1**(9), 239-242.
- Rachmaniar, R., 2003, Antikanker Swinholide A dari spons *Theonella Swinhoei*, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, **2**(4), 122.
- Rupert, E. E., dan Barnes, R. D., 1994, *Invertebrate Zoology 6th ed.*, Saunders College Publishing, Orlando.
- Rocha, J., Peixe, L., Gomes, N.C., and Calado, R., 2010, Cnidarians as a Source of New Marine Bioactive Compounds An Overview of the Last Decade and Future Steps for Bioprospecting, *Marine Drugs*, **9**: 1860-1886.
- Sarjoko, 1996, *Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas*, Rancangan Nasional dalam Pengembangan Senyawa Bioaktif, Dibawakan pada Seminar Nasional Drug Discovery, Ujung Pandang.
- Satari, R. R., 1996, Penelitian Produk Alam Laut di Indonesia Arah dan Prospek, Seminar Nasional Kimia Bahan Alam, Jakarta, 29-37.
- Savage, P. B., Li, C., Taotafa, U., Ding, B., Guan, Q., 2002, Antibacterial Properties Of Cationic Steroid Antibiotic, *Microbiology Letter*, 217 (1): 1-7.

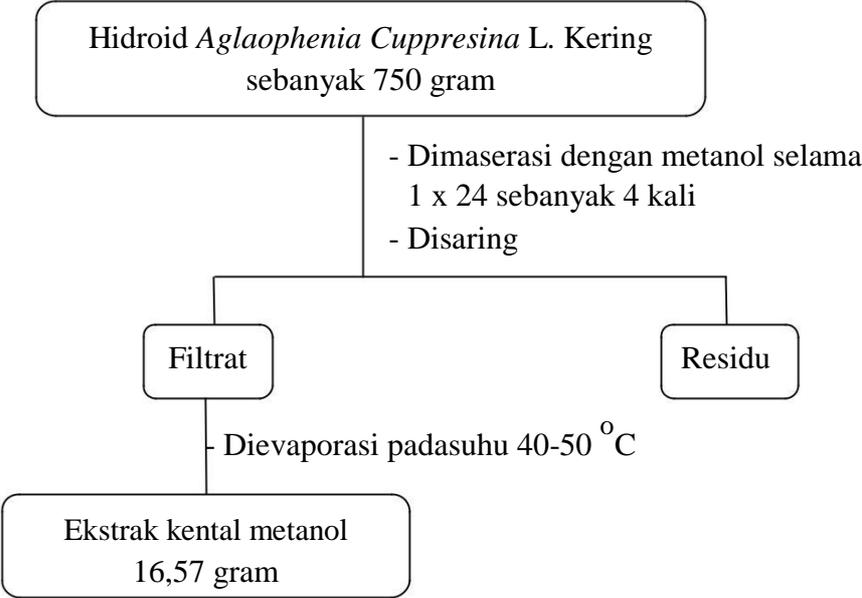
- Schwartzmann, G., 2000, Marine Organisms and Other Novel Natural Sources of New Cancer Drugs, *Ann. Oncol.* **11** (3): 235- 243.
- Silvia, Arreneus, S., Wibowo, M. A., 2015, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium Alternifolium* Melch) Terhadap Jamur *Alassezia Furfur* Dan Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Jurnal Kimia Katulistiwa*, **4** (3): 84-93.
- Tseng, L., Wu, C., Twan, W., Tang, Z., and Hwang, J., 2014, Hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from marine environments in Taiwan, *Zoological Studies*, **53** (29): 1-7.
- Vilee, C.A., Walker, W.F., dan Barnes, R.D., 1978, *General Zoology*, W. B. Saunders Comp., Philadelphia.
- Wetungu, M.W., Matasyoh, Kinyanjui, T., 2014, Antimicrobial Activity of solvent extract from the leaves of *Tarchonanthus camphoratus*, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **3** (1): 123-127.
- Wink, M., 2003, Evolution of Secondary Metabolites From an Ecological and Molecular Phylogenic Perspective, *Phytochemistry*, **64**: 3-19.
- Zipcodezoo, 2009, *Aglaophenia cupressina*, (ONLINE), [http:// zipcodezoo. com/ index. php/Aglaophenia](http://zipcodezoo.com/index.php/Aglaophenia), diakses tanggal 19 November 2016, Pukul 20.00 WITA.

LAMPIRAN

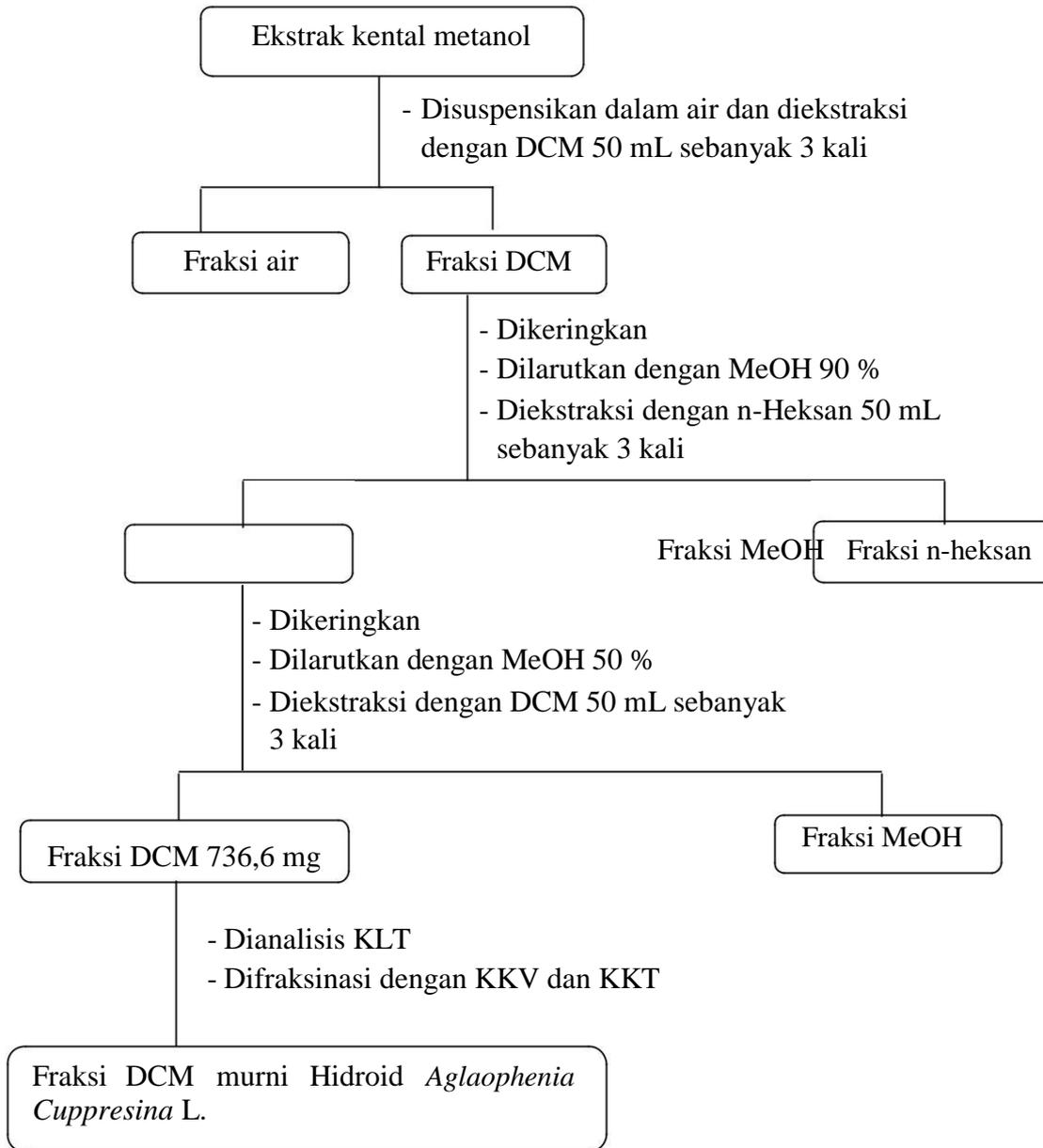
Lampiran 1. Bagan Penyiapan Sampel



Lampiran 2. Bagan Ekstraksi dan Isolasi Hidroid *Aglaophenia cupressina* L.



Lampiran 3. Fraksinasi Ekstrak Metanol dan diklorometan (DCM)

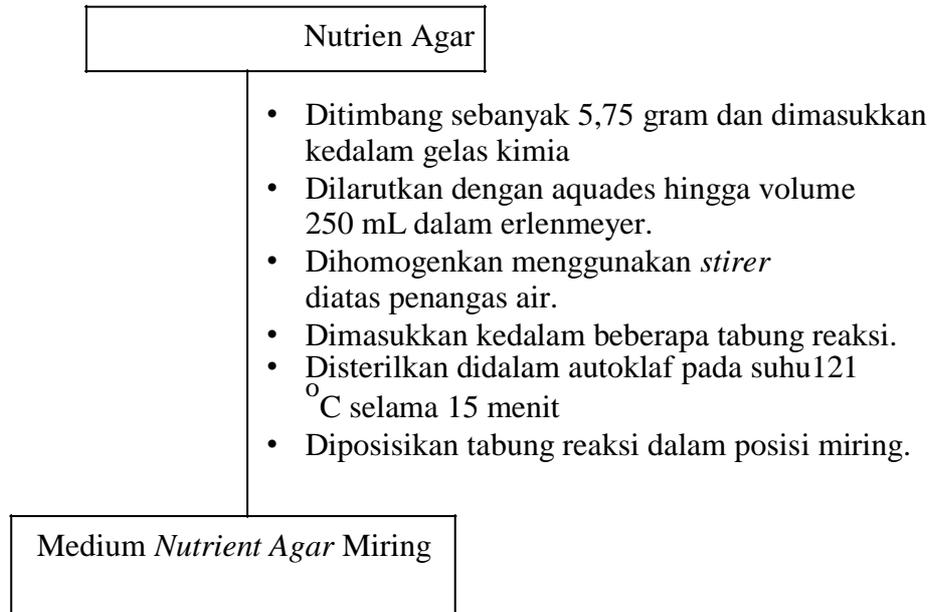


Lampiran 4. Identifikasi

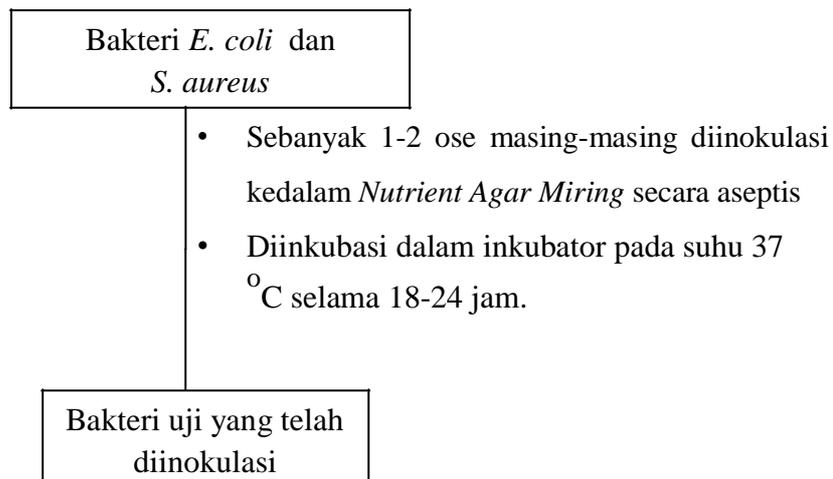


Lampiran 5. Uji Bioaktivitas

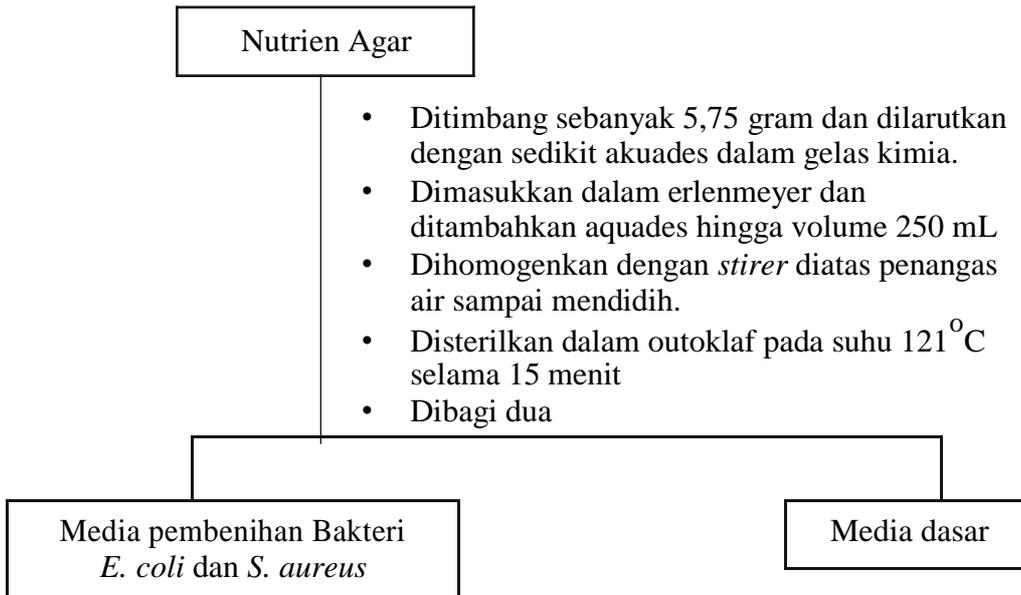
1. Pembuatan Medium *Nutrien Agar Miring*



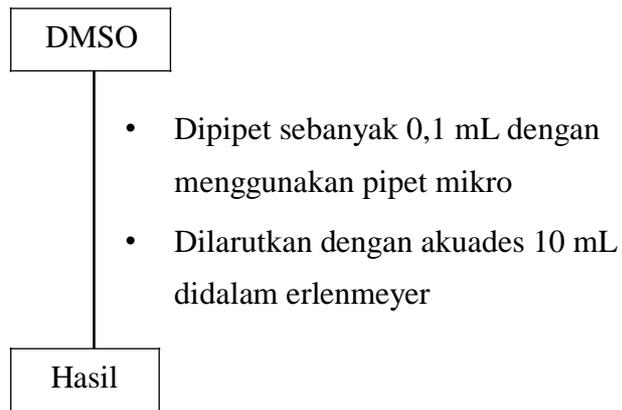
2. Penyiapan Biakan Bakteri Uji



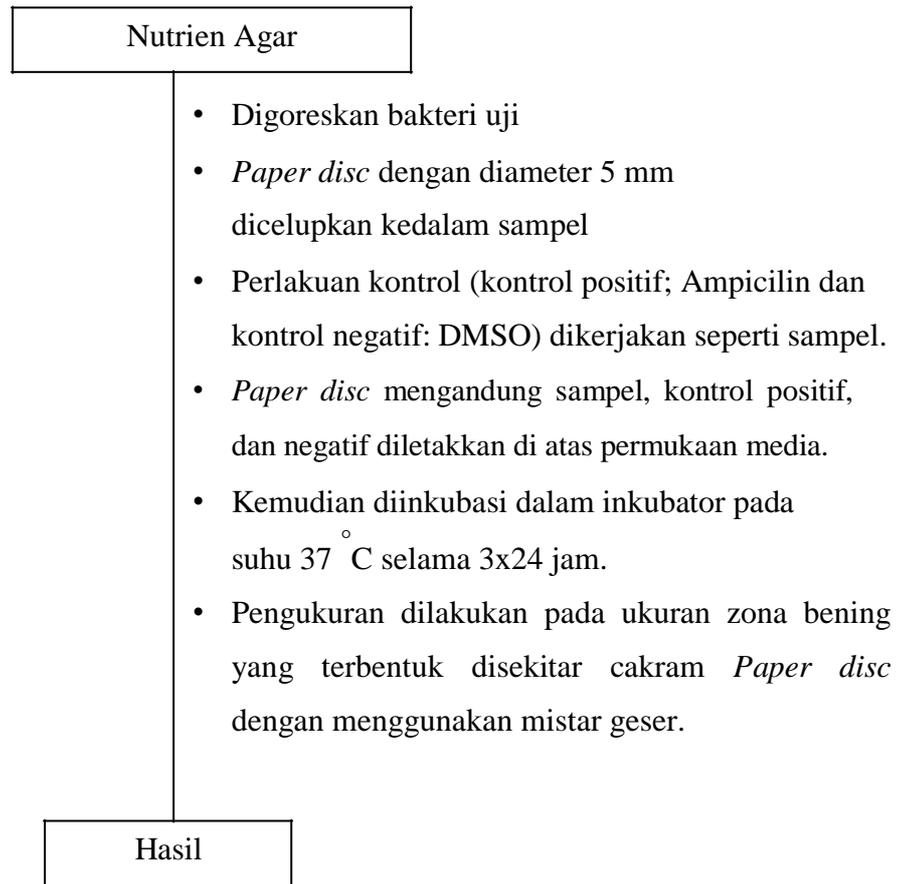
3. Pembuatan Media dasar dan Media Pembenihan



4. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif DMSO



5. Uji Bioaktivitas Antibakteri



Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

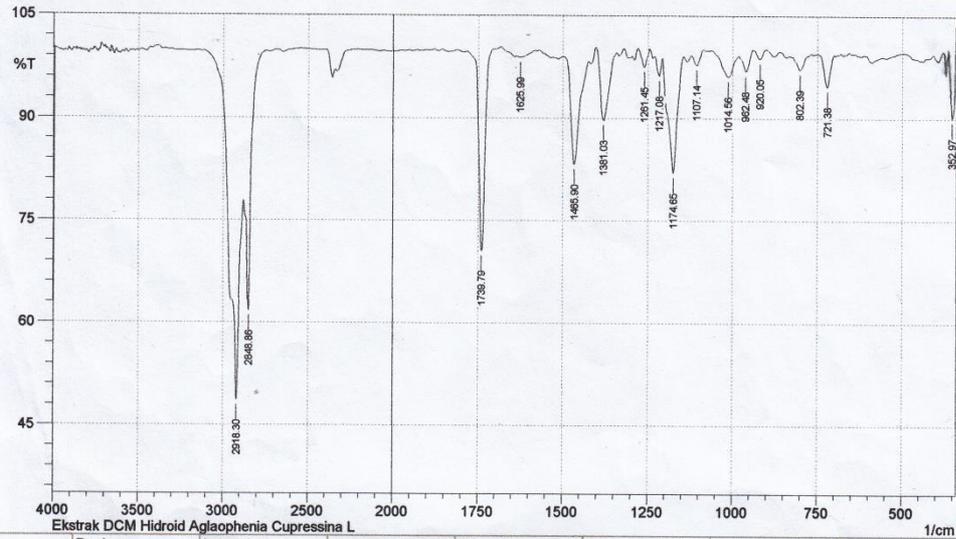


(f)

Keterangan:

- (a) Maserasi
- (b) Ekstraksi
- (c) Fraksinasi KKV
- (d) Fraksinasi KKT
- (e) Evaporasi
- (f) Kristal Murni

Lampiran 7. Hasil Spektroskopi IR

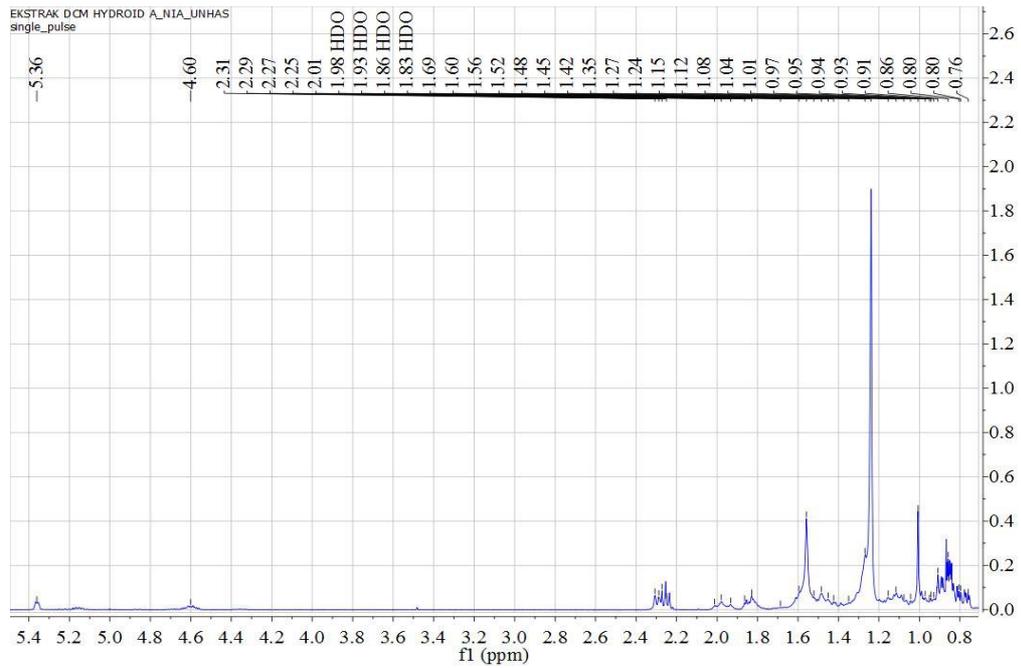


Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	352.97	90.065	12.961	364.55	339.47	0.569
2	721.38	94.645	4.78	748.38	702.09	0.531
3	802.39	97.136	2.191	833.25	769.6	0.422
4	920.05	98.718	1.363	939.33	900.76	0.089
5	962.48	96.902	2.699	983.7	939.33	0.309
6	1014.56	96.08	3.421	1062.78	983.7	0.69
7	1107.14	97.799	1.764	1122.57	1085.92	0.195
8	1174.65	81.951	17	1207.44	1145.72	2.628
9	1217.08	96.181	2.725	1230.58	1207.44	0.254
10	1261.45	97.501	2.677	1280.73	1244.09	0.173
11	1381.03	89.696	10.341	1402.25	1344.38	1.294
12	1465.9	83.211	15.423	1500.62	1425.4	2.459
13	1625.99	98.898	0.071	1637.56	1622.13	0.071
14	1739.79	70.567	29.356	1782.23	1703.14	2.931
15	2848.86	61.739	16.82	2864.29	2748.56	5.892
16	2918.3	48.664	32.756	3116.97	2879.72	21.288

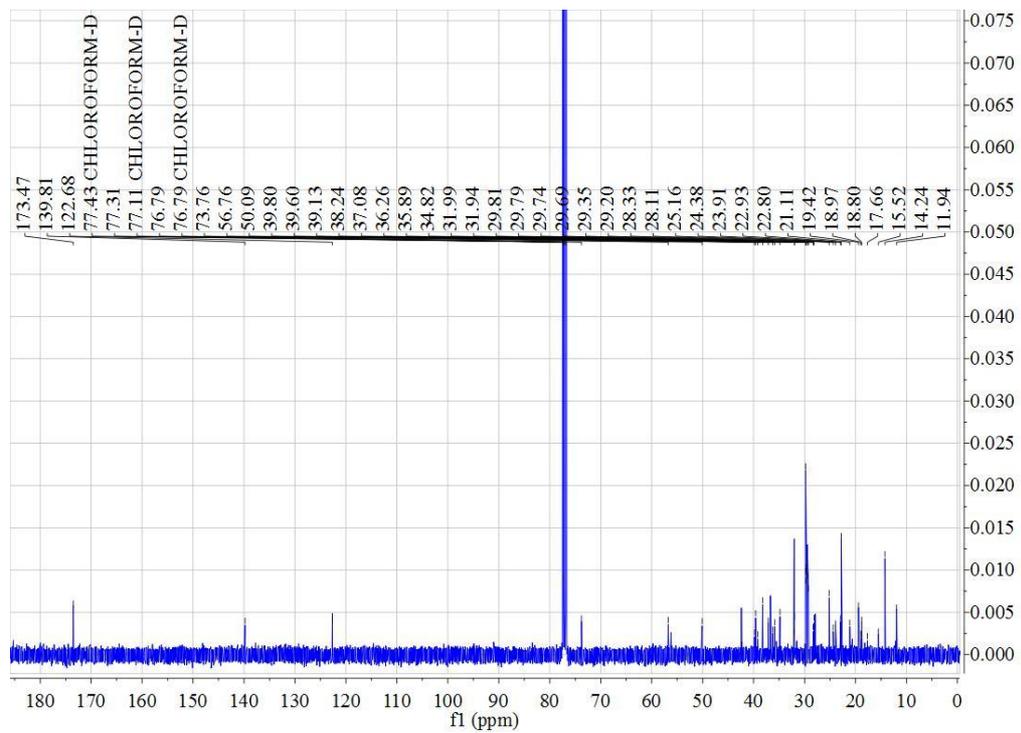
Comment;
Ekstrak DCM Hidroid Aglaophenia Cupressina L

Date/Time; 6/7/2017 2:13:47 PM
No. of Scans;
Resolution;
Apodization;

Lampiran 8. Data NMR

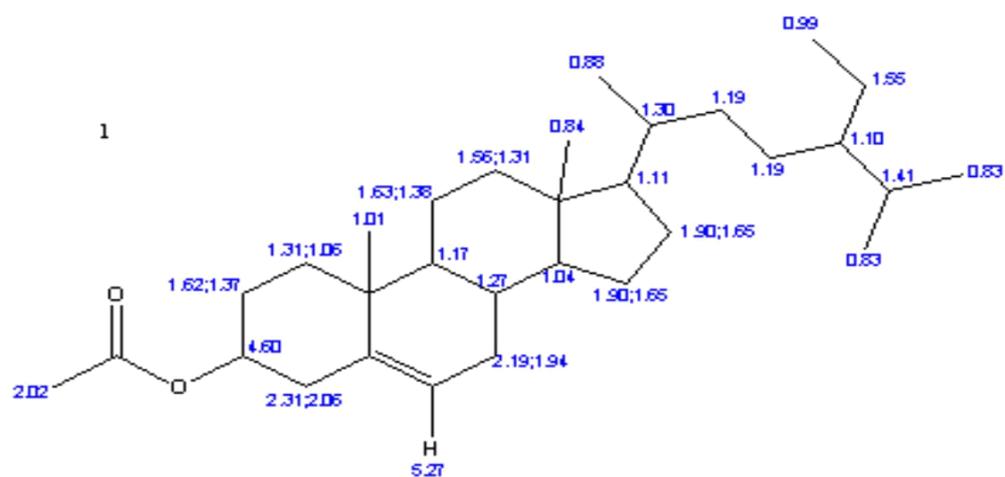


Spektrum ¹H-NMR Senyawa 1



Spektrum ¹³C-NMR Senyawa 1

ChemNMR ^1H Estimation



ChemNMR ^{13}C Estimation

