

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBAKTERI
DARI *Caulerpa racemosa* var. *uvifera***



**ARLISA FITRI YANA AKBAR
NIII 04 799**



No. Terima	4 - 4 - 09
Aspek Uji	farmasi
Barang	100g
Marga	Handis
elwendi's	
	SKR - F09

AKB
1

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2009

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBAKTERI
DARI *Caulerpa racemosa* var. *uvifera***

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**ARLISA FITRI YANA AKBAR
NIII 04 799**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

ISOLASI MIKROBA PENGHASIL ANTIBAKTERI
DARI Caulerpa racemosa var uvifera

ARLISA FITRI YANA AKBAR

NIII 04 799

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

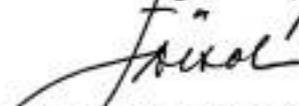


Dra. Sartini, M.Si, Apt
NIP. 131 696 792

Pembimbing Pertama,

Dra. Rahmawati Syukur, M.Si, Apt
NIP. 132 012 988

Pembimbing Kedua,



Prof. Dr. H. Faisal Attamimi, MS
NIP. 130 355 932

Pada tanggal oktober 2009

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa, atas segala Berkah, Anugerah dan petunjuk-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, petunjuk dan bantuan baik moril maupun materil dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghanturkan banyak terima kasih kepada ibu Dra. Sartini, M.Si, Apt. selaku pembimbing utama, Ibu Dra. Rahmawati Syukur, M.Si, Apt. selaku pembimbing pertama dan Bapak Dr. H. Faisal Attamimi, MS. Selaku pembimbing kedua, yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini, juga kepada Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si, Apt. selaku penasehat akademik selama penulis menjalani pendidikan di Fakultas Farmasi UNHAS.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi UNHAS, dosen-dosen beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih pula penulis sampaikan kepada teman-teman mahasiswa Fakultas Farmasi Reguler Sore Angkatan 04, terkhusus untuk fery, Mirah, Fira, Oncong, Aci, dan lank, untuk teman-teman mahasiswa Fakultas Farmasi Reguler Sore 05, terkhusus untuk kak Rahma, Kak Lily, Fate, Nana, Ningsi, Andre, kak Bagus,dan untuk asisten-asisten

Laboratorium Fakultas Farmasi UNHAS terkhusus kepada Kak Kamal, Kak Juna, July, Fandi, Lina, Dwi, dan indah, atas segala bantuan dan dukungannya. Terima kasih pula untuk Kak Lia dan Kak Dewi yang telah memberikan perhatian selama pelaksanaan penelitian.

Akhirnya semua ini tiada artinya tanpa dukungan moril dari kedua orang tua tercinta H. Akbar Nadja dan Hj. Lismawaty Akbar, dan orang-orang yang kusayangi Muh. Iqram , Arlina Dwi Yana, Arlitha Dekayana, Muh. Arliman, Arlindah Mega Yana, dan Muh. Arlifin.

Akhirnya, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, April 2009

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi bakteri simbion *Caulerpa racemosa var uvifera* dari perairan Barang Lombo, Sulawesi Selatan. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri penghasil antibiotika dari *Caulerpa racemosa var uvifera*. Isolasi Bakteri dilakukan dengan metode *pour plate*. Penentuan kemampuan bakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji dan uji aktivitas antibiotiknya menggunakan metode difusi. Isolat yang telah dikarakterisasi, difermentasi selama 8 x 24 jam pada pengocok putar pada suhu kamar dengan kecepatan putaran 170 rpm. Setiap 24 jam dilakukan pengambilan sampel untuk mengetahui pembentukan antibiotika maksimal menggunakan metode difusi agar dengan menggunakan cakram kertas dan diuji aktivitas antibiotika terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan, *Bacillus subtilis*. Ditemukan dua isolate yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji.

ABSTRACT

A research about an isolation of simbion bacteri from *Caulerpa racemosa var. uvifera* as antibiotic producer from sea of Barang Lombo, South Sulawesi. The aims of this research were to obtain bacteria isolate which produced antibiotic from *Caulerpa racemosa var uvifera*. The isolation of bacteria was done by pour plate method. Determinations of the ability of bacteri to inhibit the growth of microorganism and the test of antibiotic activity were done with diffusion method. Isolates were fermented during 8 x 24 hours with shaker 170 rpm at room temperature the centrifuge and tested the filtrate and residue to test microorganism of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Bacillus subtilis* using paper disc. From isolation result is obtained two isolates having ability of inhibit the growth of microorganism.

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMAH KASIH.....	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Umum Alga Hijau (Clorophyceae).....	4
II.2 Uraian Umum <i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>uvifera</i>	4
II.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan <i>Caulerpa</i> <i>racemosa</i> var. <i>uvifera</i>	5
II.4 Klasifikasi.....	6
II.5 Produk alam <i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>uvifera</i>	6
II.6 Uraian Umum Antibiotika.....	7
II.6.1 Penggolongan antibiotika.....	8
II.6.2 Mekanisme kerja antibiotika.....	9
II.7 Pengujian Aktivitas Antibiotika.....	9
II.7.1 Metode Pengenceran.....	9
II.7.2 Metode Difusi.....	10
II.8 Sistematika Mikroba Uji.....	11

II.8.1 Staphylococcus aureus.....	11
II.8.2 Escherichia coli.....	12
II.8.3 Bacillus subtilis.....	12
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	14
III.1 Alat dan Bahan.....	14
III.2 Metode Kerja.....	15
III.2.1 Sterilisasi alat.....	15
III.2.2 Pembuatan Medium.....	15
III.2.3 Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	15
III.2.3.1 Pengambilan Sampel.....	16
III.2.3.2 Isolasi dan Pemurnian Mikroba Penghasil Antibiotik....	16
III.2.3.3 Peremajaan Isolat Bakteri.....	16
III.2.3.4 Pembuatan Suspensi Isolat Bakteri.....	16
III.2.3.5 Produksi Antibakteri.....	17
III.2.3.6 Pemeriksaan Aktivitas Antibiotika.....	17
III.2.4 Pemeriksaan Aktivitas Antibiotika.....	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
V.1 Kesimpulan.....	31
V.2 Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	34
2. Komposisi Medium.....	35
3. Foto-Foto Hasil Penelitian.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakterisasi isolat bakteri simbion <i>Caulerpa racemosa</i> var <i>uvifera</i>	26
2. Hasil pengukuran daya hambat isolat Cr-1 dan Isolat Cr-2 terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	28
3. Hasil pengukuran daya hambat isolate Cr-1 dan isolate Cr-2 terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4. Hasil pengukuran daya hambat isolate Cr-1 dan isolate Cr-2 terhadap bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pertumbuhan isolat Cr-1 pada beberapa media.....	36
2. Pertumbuhan isolat Cr-2 pada beberapa media.....	36
3. Hasil tes biokimia dengan berbagai media karakterisasi untuk isolat Cr-1 dan Cr-2.....	37
4. Daya hambat dari aktivitas antibiotika hasil fermentasi bakteri simbion <i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>uvifera</i> terhadap mikroba uji <i>Escherichia coli</i> dari isolat Cr-1 dan Cr-2.....	38
5. Daya hambat dari aktivitas antibiotika hasil fermentasi bakteri simbion <i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>uvifera</i> terhadap mikroba uji <i>Staphylococcus aureus</i> dari isolat Cr-1 dan Cr-2.....	39
6. Daya hambat dari aktivitas antibiotic hasil fermentasi terhadap mikroba uji <i>Bacillus subtilis</i> dari isolate Cr-1 dan Cr-2.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan luas lautan sekitar 6,5 juta km dengan kehidupan biota laut diversifikasi terbesar di dunia. Potensi kekayaan laut yang besar ini bukan hanya sekedar sumber penghasil garam, ikan, agar-agar/ rumput laut tetapi juga beberapa biota laut telah diteliti, dieksplorasi dan dikembangkan untuk digunakan sebagai bahan sumber bahan baku obat di industri farmasi (1).

Beberapa organisme laut menghasilkan senyawa kimia yang tidak terdapat atau jarang ditemukan pada organisme yang hidup di darat. Beberapa dari senyawa tersebut telah memiliki sifat biomedik yang berguna untuk pengobatan manusia (2).

Pemanfaatan produk alam dari makroalga yang memiliki kandungan metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai antibiotika, memberikan prospektif yang sangat baik bagi kemajuan kesehatan masyarakat. Berbagai hasil penelitian menunjukkan banyaknya kandungan substansi aktif dalam makroalga. Produk alam dari alga telah banyak diekstraksi dan diidentifikasi serta diuji bioaktivitasnya. Salah satunya adalah *Caulerpa racemosa var uvifera* (3).

Manfaat *Caulerpa racemosa var uvifera* bagi kebutuhan manusia adalah dikonsumsi sebagai sayuran atau lalapan. Varietas *Caulerpa* sp adalah makanan laut di daerah tropikal pasifik terutama di Philipina dan Indonesia. Selain itu di Jepang dan Philipina, alga ini dimanfaatkan

sebagai substansi yang memberikan efek anestetik dan sebagai bahan campuran untuk obat anti jamur (4). Penelitian mengenai *Caulerpa racemosa var uvifera* telah dilakukan oleh Treys (5) menunjukkan bahwa ekstrak *Caulerpa racemosa var uvifera* konsentrasi 10 % memperlihatkan diameter zona hambat pada *Escherichia coli* 11,75 mm dan diameter zona hambat pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* 15,07 mm.

Menurut Myer et al., (6) melaporkan bahwa terdapat hubungan simbiotik antara spons dan mikroorganisme yang bersimbiosis dengan spons. Penelitian bahwa di laut juga terdapat mikroorganisme yang bersimbiosis dengan spons dilakukan oleh Nur haedar (7) yang meneliti mengenai spons *Heliclona fascigera* dalam menghasilkan senyawa antibiotik. Penelitian umumnya menemukan bakteri yang bersimbiosis dengan spons dan Aeron. Penelitian mengenai bakteri yang bersimbiosis dengan spons *var uvifera* belum pernah dilakukan sebelumnya.

Berdasarkan hal tersebut diatas permasalahan yang dihadapi adalah apakah bakteri yang bersimbiosis pada *Caulerpa racemosa* dapat sebagai penghasil antibakteri.

Pemecahan masalah yaitu dilakukan isolasi bakteri dari *Caulerpa racemosa var uvifera* dengan metode tuang pada medium Marine Agar. Kemudian ditumbuhkan kembali pada medium Produksi Antibiotika dan diuji kemampuannya sebagai antimikroba dengan menggunakan metode difusi.

sebagai substansi yang memberikan efek anestetik dan sebagai bahan campuran untuk obat anti jamur (4). Penelitian mengenai *Caulerpa racemosa var uvifera* telah dilakukan oleh Treys (5) menunjukkan bahwa ekstrak *Caulerpa racemosa var uvifera* konsentrasi 10 % memperlihatkan diameter zona hambat pada *Escherichia coli* 11,75 mm dan diameter zona hambat pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* 15,07 mm.

Menurut Myer et al.,(6) melaporkan bahwa terdapat hubungan simbiotik antara spons dan sejumlah bakteri dan alga, dimana diketahui bahwa di laut juga terdapat bakteri laut. Penelitian mengenai mikroorganisme yang bersimbiosis dengan salah satu biota laut telah dilakukan oleh Nur haedar (7) yang meneliti mengenai bakteri simbiosis spons *Heliclona fascigera* dalam menghasilkan senyawa antimikroba umumnya menemukan bakteri *Pseudomonas* dan *Aeromonas* Namun, penelitian mengenai bakteri yang bersimbiosis pada *Caulerpa racemosa var uvifera* belum pernah dilakukan sebelumnya.

Berdasarkan hal tersebut diatas permasalahan yang timbul adalah apakah bakteri yang bersimbiosis pada *Caulerpa racemosa var uvifera* dapat sebagai penghasil antibakteri.

Pemecahan masalah yaitu dilakukan isolasi bakteri dari *Caulerpa racemosa var uvifera* dengan metode tuang pada medium Marine Agar. Kemudian ditumbuhkan kembali pada medium Produksi Antibiotika dan diuji kemampuannya sebagai antimikroba dengan menggunakan metode difusi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri penghasil antibiotika dari *Caulerpa racemosa* var *uvifera*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian umum alga hijau (Clorophyceae)

Jenis-jenis alga dari divisi alga hijau pada umumnya tumbuh bergerombol atau berumpun dimana keberadaannya dapat dijumpai dipaparan terumbu karang dengan kedalaman 1-200 m. Mempunyai bentuk thalus berupa lembaran, batangan, atau bulatan yang bersifat lunak, keras. Sebagai fitobentik tumbuhan ini hidup menancap atau menempel pada substrat dasar perairan laut seperti karang mati, fragment karang, pasir dan pasir berlumpur. Alga ini mengandung pigmen fotosintetik antara lain klorofil a dan b, karoten, xantofil, dan lutein. Dalam dinding selnya terdapat selulosa dan pectin dengan produk polisakarida berupa kanji (starch). Pembiakannya dengan jalan penyebaran spora dan gamet serta fragmentasi thalus (8).

II.2 Uraian umum *Caulerpa racemosa var. uvifera*

II.2.1 Morfologi *Caulerpa racemosa var. uvifera*

Caulerpa racemosa var. uvifera thallus memiliki stolon berukuran besar dengan rhizoid pendek dan agak rapat. Asimilator timbul pada stolon dengan interval pendek dan memiliki bulatan-bulatan bertangkai pendek merapat/rimbun dan panjang asimilator mencapai 3 cm. Suhu pertumbuhan *Caulerpa racemosa var. uvifera* 28 ° – 30° C. Memiliki

habitat tumbuh pada substrat di daerah perairan terumbu karang dengan sebaran yang luas (8).

II.2.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Caulerpa racemosa var. uvifera*

Caulerpa racemosa var uvifera umumnya hidup di daerah dekat pantai. Untuk tetap menunjang kelangsungan hidupnya *Caulerpa racemosa var.uvifera* membutuhkan tempat menempel berupa karang mati atau cangkang moluska walaupun dapat juga berupa pasir atau Lumpur. Selain memerlukan tempat menempel *Caulerpa racemosa var. uvifera* juga memerlukan sinar matahari untuk dapat melangsungkan proses fotosintesis. Banyaknya sinar matahari yang masuk dalam air berhubungan erat dengan kecerahan air laut. Ada batas-batas tertentu untuk kejernihan air. Kejernihan air kira-kira sampai batas 5 meter atau batas sinar matahari menembusi air laut. Selain membutuhkan proses fotosintesis dengan bantuan sinar matahari dibutuhkan juga ketersediaan zat hara sebagai bahan makanan, dimana zat hara ini diperoleh dari air sekitarnya. Adanya arus sesuai (20-40 cm/detik) juga mempengaruhi pertumbuhan alga hijau. Gerakan air selain berfungsi untuk mensuplai zat hara, juga membantu memudahkan *Caulerpa racemosa var uvifera* membersihkan kotoran yang ada dan melangsungkan pertukaran CO₂ dengan O₂ sehingga kebutuhan akan oksigen dapat terpenuhi. Pertumbuhan *Caulerpa racemosa var. uvifera* juga dipengaruhi oleh salinitas atau kadar garam dan temperature (9).

II.2.3 Klasifikasi

Caulerpa racemosa var. uvifera (Turner) Weber van Bosse (10)

Regnum : Plantae

Divisio : Thallophyta

Classis : Chlorophyceae

Ordo : Caulerpales

Familia : Caulerpaceae

Genus : Caulerpa

Spesies : *Caulerpa racemosa var uvifera*

II.2.4 Produk Alam *Caulerpa racemosa var uvifera*

Setiap organisme mampu memproduksi produk alam. Produk alam terdiri dari metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer merupakan substansi hasil proses metabolisme yang digunakan oleh organisme tersebut untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Sedangkan metabolit sekunder diturunkan secara biosintetik dari metabolit primer dan umumnya berfungsi sebagai pertahanan lingkungannya dan untuk kelangsungan mikroorganisme lain.

Demikian pula dengan makroalga yang mampu memproduksi metabolit primer dan sekunder. Produk alam berupa metabolit sekunder dari makroalga banyak dimanfaatkan sebagai produk industri antara lain: sebagai bahan makanan, media pertumbuhan bakteri, pembuat jelly, pembuat emulsi, sebagai bahan campuran pengecatan tekstil. Beberapa

produk alam dari makroalga menunjukkan aktivitas farmakologik sehingga sangat prospektif digunakan untuk pengobatan (8).

II.3 Uraian Umum Antibiotika (11,12,13)

Antibiotika adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relative kecil. Aktivitas antibiotika untuk pertama kalinya ditemukan secara kebetulan oleh Sir Alexander Fleming (Inggris,1929,Penicilin)yang merupakan titik tolak penelitian yang menghasilkan senywa dengan daya anti infeksi yang sangat menakjubkan, yang sekarang dikenal dengan nama antibiotika. Akan tetapi penemuan fleming tersebut tidak mempunyai arti dalam pengobatan praktis, sebelum Florey dan Chain serta kawan-kawannya di Oxford melakukan penelitian penerapan antibiotika tersebut dalam terapi. Namun jauh sebelumnya manusia telah menggunakan sejumlah bahan yang pada saat ini diduga efektif karena mengandung bahan yang bersifat antibiotika.

Penemuan Vuilemin pada tahun 1889 telah menggunakan istilah antibiosis (melawan kehidupan) yang diartikan bahwa suatu organisme menghancurkan organisme lain dalam melindungi kepentingan hidupnya sendiri. Dari kata dasar inilah berkembang menjadi antibiotika yang luas digunakan baik oleh masyarakat awam, profesi kesehatan ataupun oleh ilmu pengetahuan lainnya, sehingga istilah tersebut hampir tidak mungkin untuk didefinisikan secara memuaskan. Demikian pula waksman pada

tahun 1943 mengatakan definisi yang lebih luas digunakan, bahwa antibiotika atau bahan antibiotika adalah bahan yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan menghambat atau mematikan mikroorganisme lain. Di samping itu Bennedict dan Langlyke mengatakan bahwa antibiotika adalah senyawa kimia yang diturunkan dari atau diproduksi oleh mikroorganisme hidup yang dalam kadar kecil mampu menginhibisi proses kehidupan mikroorganisme lain. Suatu senyawa yang digolongkan antibiotika, apabila:

1. Bahan tersebut merupakan produk metabolisme.
2. Bahan tersebut adalah produk sintesis yang dihasilkan sebagai analog struktur suatu antibiotika yang terdapat di alam.
3. Bahan tersebut mengantagonis pertumbuhan dan atau keselamatan satu spesies mikroorganisme atau lebih.
4. Bahan tersebut efektif dalam konsentrasi rendah.

II.3.1 Penggolongan Antibiotika

Antibiotika dapat dibedakan berdasarkan cara kerja atau tipe kerja yaitu bakteristatik atau fungistatik dan bakterisida atau fungisida, sedangkan penggolongan antibiotika berdasarkan spectrum aktivitasnya, yaitu :

1. Antibiotika dengan spectrum luas, efektif baik terhadap gram positif maupun gram negatif.
2. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram positif.

3. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominant terhadap bakteri gram negatif.
4. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominant pada Mycobacteriae
5. Antibiotika yang aktif terhadap jamur.
6. Antibiotika yang aktif terhadap neiplasma (antikanker)

II.3.2 Mekanisme Kerja Antibiotika

Berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotika dikelompokkan ke dalam:

1. Antibiotika yang mengganggu serta merusak metabolisme sel mikroba.
2. Antibiotika yang menghambat sintesis dinding sel mikroba
3. Antibiotika yang mengganggu keutuhan membrane sel mikroba
4. Antibiotika yang menghambat sintesis protein sel mikroba
5. Antibiotika yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

II.4 Pengujian aktivitas antibiotika(14)

II.4.1 Metode Pengenceran

Metode ini menggunakan teknik tabung pengenceran penghambatan pertumbuhan (berkurangnya pertumbuhan) yang dihasilkan oleh sampel yang diuji terhadap pertumbuhan mikroorganisme dapat diukur dengan alat Fotokolorimeter. Prinsip kerjanya yaitu cahaya yang mengenai sel-sel mikroorganisme di dalam sampel akan dihamburkan sedangkan cahaya yang diteruskan setelah melewati suspensi mikroorganisme akan mengaktifasi foto tabung yang akan mencatat persen transmittan (%T). Makin sedikit jenis sel di dalam



suspensi maka makin besar intensitas cahaya yang lolos dan semakin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

II.4.2 Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh media. Pada media ini kemampuan zat antibiotika ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara ini adalah :

1. Metode Difusi dengan Plat Silinder

Cara ini berdasarkan perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Pada cara ini digunakan plate silinder yang diletakkan pada media kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalam plate silinder tersebut.

2. Metode Difusi dengan Cup Plate

Prinsip cara ini sama dengan plate silinder perbedaannya disini digunakan mangkok yang dibuat langsung pada media agarnya.

3. Metode Difusi dengan Kertas Saring

Perbedaan metode ini dengan cara-cara di atas yaitu pada metode ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,0 cm yang nanti akan dicelupkan dalam larutan contoh dan larutan pembanding.



suspensi maka makin besar intensitas cahaya yang lolos dan semakin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

II.4.2 Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh media. Pada media ini kemampuan zat antibiotika ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara ini adalah :

1. Metode Difusi dengan Plat Silinder

Cara ini berdasarkan perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Pada cara ini digunakan plate silinder yang diletakkan pada media kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalam plate silinder tersebut.

2. Metode Difusi dengan Cup Plate

Prinsip cara ini sama dengan plate silinder perbedaannya disini digunakan mangkok yang dibuat langsung pada media agarnya.

3. Metode Difusi dengan Kertas Saring

Perbedaan metode ini dengan cara-cara di atas yaitu pada metode ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,0 cm yang nanti akan dicelupkan dalam larutan contoh dan larutan pembanding.

Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan mengukur daerah hambatan yang terjadi.

4. Metode Difusi Kirby Bauer

Prinsip dan cara kerjanya sama dengan metode difusi kertas saring. Perbedaannya adalah disini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring ke dalam cawan petri yang berukuran 15 x 150 mm sehingga langsung diuji dengan berbagai variasi konsentrasi dalam larutan contoh.

5. Metode Agar Berlapis

Cara ini merupakan dari cara Kirby Bauer. Perbedaannya adalah pada cara ini menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama "Base Layer" tidak mengandung bakteri, sedangkan lapisan kedua "Up Layer" mengandung bakteri yang dicampurkan pada media agar.

II.6 Sistematika Mikroba Uji (15,16)

II.5.1 *Staphylococcus aureus*

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1,0 μm , tidak mempunyai alat gerak dan tidak tahan

asam. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 10-45^o C. Pada tubuh biasanya terdapat pada permukaan kulit, saluran pernafasan bagian atas, saluran air kemih, mulut, hidung, luka yang terinfeksi, selaput lender dan tempat-tempat lainnya.

II.5.2 *Escherichia coli*

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli adalah bakteri gram negative, berbentuk batang pendek dengan diameter 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , mempunyai flagella peritrik yang digunakan sebagai alat untuk bergerak dan ada juga yang tidak bergerak. Bakteri ini bersifat anaerobic fakultatif dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas.

Bakteri ini biasa ditemukan dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan vertebrata. Di alam bebas biasa terdapat dalam air, tanah dan bahan organik. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah suhu 37^oC.

II.5.3 *Bacillus subtilis*

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales
Famili : Bacillaceae
Genus : Bacillus
Spesies : *Bacillus subtilis*

Merupakan bakteri gram positif berbentuk lonjong, batang dan merupakan bakteri aerobic pembentuk endospora. Dinding endospora sangat tebal dan refraktil serta resisten terhadap pengaruh perubahan lingkungan. Terdapat di tanah dan tanaman yang sudah membusuk dan bersifat non pathogen. Bersifat mesofilik, bakteri ini membentuk koloni yang mengkerut berwarna krem sampai coklat dan bila ditumbuhkan dalam medium cair membentuk gumpalan. Dapat digunakan sebagai fungisida pada bunga dan bibit karena tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan.

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, botol pengencer, cawan petri (*pyrex*), deck gelas, incubator (*Memmert*), jangka sorong (*Sunlon*), *Laminar Air Flow* (*Enviro*), Lemari pendingin (*Panasonic*), Lampu spiritus, Mikroskop (*Passed*), Oven (*WTB Binder*), ose, pencadang, sentrifus (*DSD 154*), spektrofotometri UV-Vis (*Model 340*), *shaker* (*MSP VX2*), timbangan analitik (*Chyo JL 200*), *paper disc* (*Waksman*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah Alkohol 70%, Alkohol 96%, Aluminium foil, Antibiotika Tetracyclin, biakan murni *Escherichia coli*, biakan murni *Bacillus subtilis*, biakan murni *Staphylococcus aureus*, Larutan Etil asetat 96%, Indikator pH universal, Larutan NaCl fisiologis, Larutan HCl 0,01 N, Larutan NaOH 0,01 N, Medium Agar (*Difco*), Medium produksi (*Difco*), Medium *Simmon Citrate Agar* (*Difco*), Medium *Marine* (*Pronadisa*), Medium *Methyl Red – Voges Preskauer* (*Pronadisa*), Medium *Kighler Iron Agar* (*Difco*), Medium *Sulfid Indol Motility* (*Difco*), Medium *yeast ekstrak* (*Pronadisa*), Medium *Dekstrosa* (*Difco*), Medium *Thyoglycollate* (*Difco*), Natrium Klorida 0,01 N, Pewarna gram : Gram A, B, C dan D, Pewarna spora : *Malachite green* dan *Sapranin* dan pereaksi *Methyl red*.

III.2 Metode Kerja

III.2.1 Sterilisasi Alat (17)

Alat-alat yang digunakan dicuci dengan air dan detergen kemudian dibilas dengan air suling. Selanjutnya dikeringkan, dibungkus dan disterilkan. Alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan dengan oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan pada lampu spiritus, sedangkan untuk alat-alat yang tidak tahan pada pemanasan tinggi, disterilkan pada autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.2.2 Pembuatan Medium (18,19)

Bahan-bahan ditimbang sesuai kebutuhan kemudian masing-masing bahan tersebut disuspensikan dengan air lalu dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan homogeny, diukur pH nya. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling sampai volume 1000 ml. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

III.2.3 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

III.2.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel *Caulerpa racemosa var uvifera* diambil dari perairan kepulauan Barang Lompo, Sulawesi Selatan. Sampel *Caulerpa racemosa var uvifera* direndam dalam air laut dibawa ke laboratorium dan dicuci kembali menggunakan aquadest steril.

III.2.3.2 Isolasi dan Pemurnian Mikroba Penghasil Antibiotika

Sampel *Caulerpa racemosa var uvifera* ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan dalam lumpang steril kemudian ditambahkan larutan pengencer NaCl 0,9%, digerus sampai homogen. Suspensi sampel kemudian dimasukkan ke dalam medium Marine Broth, diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu kamar. Dilakukan pengenceran bertingkat. Selanjutnya, dipipet 1 ml dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dan dimasukkan masing-masing ke dalam cawan petri, lalu dituangkan sebanyak 15 ml medium Marine Agar. Digoyang-goyangkan sampai tercampur rata. Biarkan membeku lalu diinkubasi selama 2-5 hari pada suhu kamar.

Dari koloni yang memperlihatkan adanya zone penghambatan, diambil 1 ose lalu digoreskan pada medium Marine Agar cawan lain lalu diinkubasi selama 1-2 hari. Selanjutnya, dipindahkan 1 ose koloni yang terpisah baik kedalam medium Marine Agar miring dan diinkubasi selama 24 jam, sehingga diperoleh kultur koloni mikroba yang murni.

III.2.3.3 Peremajaan Isolat Bakteri

Biakan koloni yang murni diambil sebanyak 1 ose dan digoreskan pada medium Marine agar miring. Diinkubasikan selama 24 jam pada suhu kamar.

III.2.3.4 Pembuatan Suspensi Isolat Bakteri

Dimasukkan \pm 5 ml NaCl 0,9 % ke dalam Marine agar miring untuk mendispersikan isolat bakteri sampel dan diukur serapannya pada panjang gelombang 580 nm hingga T 25 %.

III.2.3.5 Produksi Antibakteri

Suspensi isolat bakteri dipipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan kedalam 15 ml media produksi antibiotika, lalu diinkubasikan selama 1 - 8 hari sambil digoyang-goyangkan menggunakan *shaker*. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi.

III.2.3.6 Pemeriksaan Aktivitas Antibiotika

Medium MHA didinginkan hingga suhu sekitar 25°C, kemudian 15 ml medium MHA dicampur dengan 0,2 ml suspensi mikroba uji dan dituang secara aseptik ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga setengah memadat. Kemudian diletakkan secara aseptik *paper disc* yang sudah ditetesi dengan kontrol, filtrat dan residu hasil fermentasi, sebanyak 0,2 ml, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

III.2.4 Karakteristik Bakteri

1. Pengamatan morfologi secara makroskopik

Medium MA dituang sebanyak 15 ml ke dalam cawan petri dan dibiarkan membeku kemudian diinokulasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat koloni, warna dan permukaannya.

2. Pengamatan morfologi secara mikroskopik

Digunakan isolat yang tumbuh pada medium marine agar. Preparat olesan difiksasi, kemudian ditambah 2-3 tetes gram A (kristal violet), dibiarkan 1 menit. Dicuci dengan air mengalir, dikeringkan dengan kertas saring. Ditambahkan gram B (Mordant), dibiarkan 1 menit. Ditetesi dengan

gram C (etanol 95%) selama 10-20 detik. Dicuci dengan air mengalir. Ditetesi dengan gram D (safranin selama 1 menit). Dikeringkan . Diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x . Gram positif berwarna ungu dan gram negatif berwarna merah.

3. Pengamatan Morfologis Secara Mikroskopik Dengan Pewarnaan Spora

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol 96%, kemudian difiksasi di atas lampu spiritus, selanjutnya biakan murni diambil secara aseptis dan diletakkan di atas gelas objek lalu diratakan kemudian difiksasi kembali. Setelah dingin preparat ditetesi pewarna Malachite green, selama 5 menit, dicuci dengan air mengalir selama 30 detik, kemudian ditetesi dengan safranin selama 30 detik. Setelah dibilas dengan air dikeringkan di atas kertas serap. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya spora, bentuk serta letak spora di dalam sel.

4. Uji Katalase

Gelas objek ditetesi dengan dua tetes hidrogen peroksida 3 % kemudian secara aseptik diinokulasikan dengan biakan dan dicampur dengan baik. Uji (+) ditandai dengan terbentuknya gelembung udara.

5. Uji Persyaratan Oksigen

Medium thioglycolate dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang diinokulasikan suspensi biakan sebanyak 1 ml. Diinkubasikan pada suhu 28°C – 32°C selama 4 hari. Pengamatan dilakukan dengan melihat pertumbuhan pada permukaan medium.

6. Uji Motilitas

Medium SIM pada agar tegak diinokulasikan biakan secara tusukan dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya rambatan diujung tusukan.

7. Uji Merah Metil

Medium MR-VP dalam tabung reaksi diinokulasikan dengan biakan mikroba dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian ditetesi dengan merah metil. Adanya perubahan warna medium menjadi merah menunjukkan mikroba tersebut memproduksi asam.

8. Uji Voges Preskauer

Biakan mikroba dalam medium MR-VP ditambahkan dengan reagen barrit yaitu 10 tetes larutan A dan 10 tetes larutan B, dikocok selama 30 detik. Positif jika berwarna merah.

9. Uji Penggunaan Sitrat sebagai sumber C

Medium SCA dibuat agar miring dan diinokulasikan dengan biakan secara goresan, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat adanya pertumbuhan dan mengubah warna hijau menjadi biru.

10. Uji Kighler Iron Agar

Medium TSIA dibuat agar miring dan diinokulasikan dengan biakan mikroba secara goresan ke dalam dasar medium kemudian keseluruhan permukaannya. Selanjutnya diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pembacaan hasil berdasarkan terjadinya fermentasi dengan pembentukan warna pada dasar dan lereng pada media serta ada tidaknya pembentukan gas H₂S pada media.

11. Uji pH Pertumbuhan

Medium glukosa yeast ekstrak dituang kedalam tabung reaksi, kemudian diatur pH nya mulai dari pH 1 – 12 dengan menambahkan HCl 1N dan NaOH 1N, dimiringkan dan dibiarkan membeku. Diinokulasikan

dengan biakan dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji positif jika terdapat pertumbuhan.

12. Uji Suhu Pertumbuhan

Medium MA dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai membeku. Diinokulasikan dengan biakan secara goresan, kemudian diinkubasikan pada suhu 4°C, 25°C, 37° C, dan 45° C, selama 24 jam. Uji positif jika terdapat pertumbuhan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari sampel *Caulerpa racemosa var uvifera* yang diteliti diperoleh 2 isolat dengan karakteristik masing-masing seperti yang disajikan pada gambar 1. Hasil pengujian aktivitas antibiotika sebagaimana yang disajikan pada gambar 2-3 terlihat bahwa, isolat Cr-1 memberi daya hambat terbesar terhadap mikroba uji *Escherichia coli* adalah sebesar 9 mm, pada fermentasi hari ketujuh, *Staphylococcus aureus* adalah 10 mm, pada hari ketujuh, dan *Bacillus subtilis* adalah 11 mm pada hari ketujuh. Pada isolat Cr-2 memberi daya hambat terbesar terhadap *Escherichia coli* adalah 12,5 mm pada hari ketujuh, *Staphylococcus aureus* adalah 13 mm pada hari ketujuh, dan *Bacillus subtilis* adalah 11 mm pada hari ketujuh.

Pada proses pembiakannya bakteri simbiosis sampel menunjukkan bahwa dapat tumbuh baik pada medium marine agar yang mempunyai kadar garam yang lebih tinggi daripada medium pertumbuhan lain.

Pada pembiakan mikroba simbiosis *Caulerpa racemosa var uvifera*, setelah diinkubasi selama 7-14 hari, diamati koloni yang tumbuh dan memperlihatkan adanya zona bening disekitarnya, berarti koloni yang tumbuh ini dapat menghambat atau mematikan pertumbuhan mikroorganisme yang lain disekitarnya sehingga mikroorganisme tersebut tidak dapat tumbuh. Selanjutnya koloni ini dimurnikan dan digunakan

sebagai stok. Dari biakan murni tersebut kemudian dilakukan karakterisasi.

Proses pengecatan gram pada tahap karakterisasi untuk menentukan apakah isolat yang telah kita dapatkan termasuk ke dalam bakteri gram negative atau bakteri gram positif. Setelah melewati proses pemberian Cat A (Kristal violet), Cat B (Iodium), Cat C (Alkohol) serta Cat D (Safranin) maka isolat Cr-1 termasuk gram negative bentuk batang yang ditunjukkan pada mikroskop yaitu berwarna merah dan isolat Cr-2 termasuk gram positif bentuk bulat yang ditunjukkan pada mikroskop yaitu bakteri berwarna biru (basil gram positif). Hal ini disebabkan bakteri gram positif mempunyai kadar lipid dan protein yang rendah sehingga terjadi denaturasi protein pada dinding selnya pada pencucian dengan alkohol yang menyebabkan protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil sehingga kompleks Kristal violet dan iodium dipertahankan oleh karena itu sel bakteri berwarna biru atau ungu.

Karakterisasi dengan media Kigler Iron Agar, isolat Cr-1 menghasilkan reaksi alkali pada lereng media dan asam pada dasar media dan tidak menghasilkan gas dan H_2S , sedangkan isolat Cr-2 menghasilkan reaksi alkali pada lereng media dan asam pada dasar media dan menghasilkan gas dan H_2S . Pada uji Citrat menunjukkan bahwa isolat Cr-1 tidak menggunakan Natrium Citrate sebagai sumber carbon sedangkan isolat Cr-2 menggunakan Natrium Citrate sebagai sumber carbon. Kedua isolat memproduksi asam dengan terbentuknya

warna merah pada uji Methyl Red. Isolat Cr-1 merupakan bakteri anaerob dan isolat Cr-2 merupakan bakteri aerob yang menunjukkan terbentuknya gelembung udara pada uji katalase karena dapat memproduksi enzim katalase.

Isolat yang telah dikarakterisasi kemudian difermentasi dalam medium produksi selama 8 x 24 jam dengan pengambilan sampel tiap 24 jam untuk mengetahui pembentukan zat aktif antibiotika yang maksimal. Antibiotika merupakan metabolit sekunder yang pembentukannya terjadi paling banyak setelah fase pertumbuhan berhenti atau pada fase stasioner, yaitu berkaitan pada saat nutrisi mulai berkurang dan terjadi perubahan morfologi yang berkaitan dengan perubahan pada metabolisme yaitu terjadi dalam hal komposisi enzim. Pada stadium ini setelah sel-sel berhenti membelah, metabolit sekunder mulai diproduksi kebanyakan antibiotika merupakan metabolit sekunder, beberapa antibiotika dibentuk pada keadaan terjadi perubahan morfologi yaitu berdekatan dengan waktu pembentukan spora (20). Dari hasil uji aktivitas yang telah dilakukan dapat terlihat bahwa isolat Cr-1 dan isolat Cr-2 ditandai dengan adanya zona bening, dimana rata-rata terjadi pada hari keenam dan ketujuh.

Hasil fermentasi disentrifuge terlebih dahulu untuk memisahkan filtrate dan residunya. Hal ini dilakukan karena mikroorganisme dapat menghasilkan antibiotika di luar sel (ekstrasel) berupa bahan-bahan toksik yang dapat larut dan dikeluarkan dari sel selama proses pertumbuhan

mikroorganisme (eksotoksin) yang biasanya terdapat pada filtrat. Antibiotika dapat pula dihasilkan di dalam sel mikroorganisme dan dikeluarkan jika selnya dihancurkan (endotoksin) dan endotoksin tersebut terdapat pada residu, sehingga untuk pengujian aktivitas antibiotika dilakukan baik terhadap filtrate maupun residunya (21). Dari hasil pengujian terhadap isolat Cr-1 dan isolat Cr-2 menunjukkan aktivitas yang terbesar adalah yang berasal dari residu, sehingga kemungkinan isolate ini dihasilkan di dalam sel mikroorganisme dan dikeluarkan jika selnya dihancurkan.

Pengujian aktivitas antibiotika dilakukan berdasarkan metode difusi agar yang menggunakan Paper Disc (Waksman) yang dibuat berbentuk bulat dengan diameter 0,5 mm. Daya kerja antibiotika dapat dilihat pada luasnya daerah hambatan yang terbentuk setelah masa inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dengan menggunakan kontrol positif tetrasiklin untuk mikroba uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. Metode Agar Cakram Kertas (Paper Disc Method) merupakan salah satu cara untuk menguji kesanggupan antibakteri dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup. Dari tabel 2-4 terlihat bahwa diameter daerah hambat dari kedua isolat terhadap bakteri uji, besarnya bervariasi mulai dari 7 mm, 9 dan 10 mm. S. David dalam Haslm(22), mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan antibiotika-bakteri sebagai berikut : daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10 mm- 20 mm (kuat), daerah hambatan 5 mm- 10 mm

(sedang), dan daerah hambatan 5 mm atau kurang (lemah). Jadi jika dikaitkan dengan ketentuan kekuatan antibiotika-antibakteri yang dikemukakan oleh Stout, berarti kedua isolat tersebut memiliki kekuatan antibiotika yang sedang sampai yang kuat.

Tabel 1. Karakterisasi Isolat Bakteri Simbion *Caulerpa racemosa* var *uvifera* dari Perairan Barang Lompo, Sulawesi Selatan.

Jenis Pengamatan	Isolat	
	Cr-1	Cr-2
Uji Katalase	Negatif	Positif
Uji Penggunaan Sitrat	Negatif	Positif
Uji Methyl Red	Positif	Positif
Uji Voges Preskauer	Negatif	Negatif
Uji Motility	Negatif	Positif
- H ₂ S	Negatif	Positif
Uji pH Pertumbuhan		
pH 1	-	-
pH 2	-	-
pH 3	-	-
pH 4	-	+
pH 5	+	++
pH 6	++	+++
pH 7	+++	+++
pH 8	++	++++
pH 9	+	+
pH 10	-	-
pH 11	-	-

pH 12	-	-
Uji TSIA		
- Lereng	Merah	Merah
- Dasar	Kuning	Kuning
Uji Suhu Petumbuhan		
5°C		
25°C	+	+
37°C	+++	+++
40°C	++++	++++
	++	++

Tabel 2. Hasil Pengukuran Daya Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi Terhadap Mikroba Uji *Escherichia coli*

Lama Fermentasi (jam)	Isolat			
	Cr-1		Cr-2	
	Filtrat	Residu	Filtrat	Residu
72	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0
96	5,9	0	6,1	0
	6	0	6,7	0
Rata-rata	5,95	0	6,4	0
120	0	0	13	0
	0	0	9	0
Rata-rata	0	0	11	0
144	0	6,4	0	0
	0	6,9	0	0
Rata-rata	0	6,65	0	0
168	0	9	0	12,5
	0	9,3	0	11,9
Rata-rata	0	9,15	0	12,2
192	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0

Tabel 3. Hasil Pengukuran Daya Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi Terhadap Mikroba Uji *Staphylococcus aureus*

Lama Fermentasi (jam)	Isolat			
	Cr-1		Cr-2	
	Filtrat	Residu	Filtrat	Residu
72	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0
96	7,1	0	0	0
	6	0	0	0
Rata-rata	6,55	0	0	0
120	7	0	0	0
	7	0	0	0
Rata-rata	7	0	0	0
144	8,4	0	9,5	0
	7	0	10	0
Rata-rata	7,7	0	9,75	0
168	0	10	0	13
	0	9,7	0	10,7
Rata-rata	0	9,85	0	11,85
192	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0

Tabel 4. Hasil Pengukuran Daya Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi terhadap Mikroba Uji *Bacillus subtilis*

Lama Fermentasi (jam)	Isolat			
	Cr-1		Cr-2	
	Filtrat	Residu	Filtrat	Residu
72	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0
96	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0
120	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0
144	0	7	9	0
	0	7,9	8,3	0
Rata-rata	0	7,45	8,65	0
168	7	7	0	12
	8,3	11	0	10
Rata-rata	7,65	9	0	11
192	0	0	0	0
	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ditemukan dua isolat bakteri yang bersifat antibiotika yang ditandai dengan terbentuknya zona bening.
2. Diperoleh isolate bakteri gram negative dan gram positif

V.2 Saran

Dari hasil penelitian yang telah diperoleh, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan media bakteri dan bakteri uji yang lain dengan menggunakan metode yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

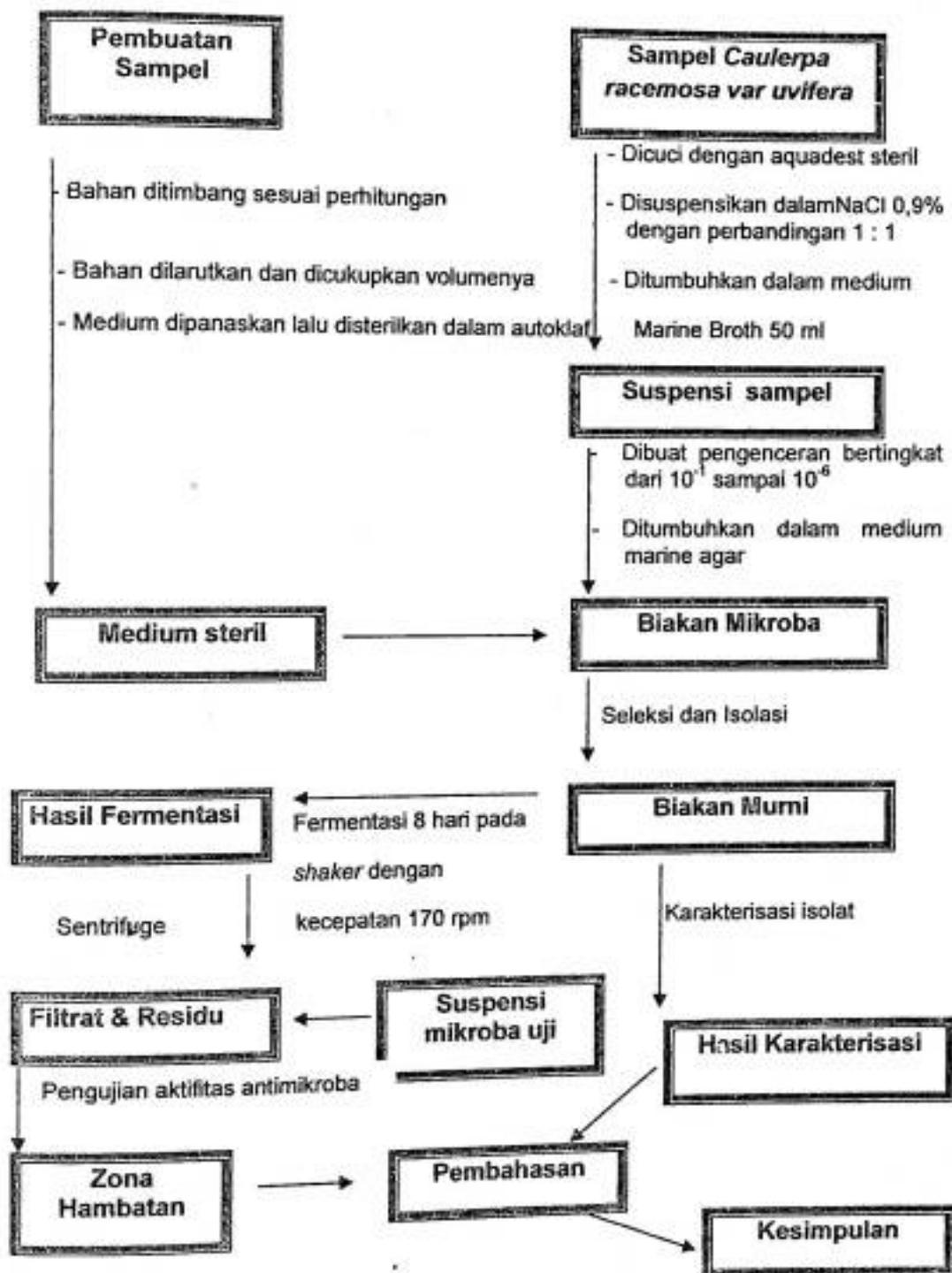
1. Rismana, E. 2001. *Biota Laut Berpotensi Besar jadi Sumber Bahan Baku Obat dari industri farmasi*, (On line). <file:///A:/Biota%20Laut%20Berpotensi%20Besar.htm>, diakses 26 Nopember 2008.
2. Anonymous.2007. *Marine Biotechnology: Biomedicine and Pharmaceutical* (On line). <http://www.msdg.umd.edu/biotech/archievm/biomedic.htm>, diakses 25 Nopember 2008.
3. Atmadja,W.S., 1996, *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia*, Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta. 99, 120
4. Anonim, "Uji Kualitatif Daya Hambat Ekstrak *Caulerpa racemosa* var. *uvifera* Terhadap Pertumbuhan Beberapa Bakteri Patogenik", <http://digilib.itb.ac.id>, Diakses 27 Oktober 2008. 1
5. Yusuf, T.R., 2006, *Skrining Senyawa Antibakteri dari Caulerpa racemosa var uvifera (Turner) Weber Van Bosse Asal Perairan Pulau Lae-Lae*, Skripsi Jurusan Biologi FMIPA Unhas, Makassar.
6. Suparno.,2005, *Kajian Bioaktif Spons Laut (Porifera: Demospongiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia Dalam Bidang Farmasi* (On line),<http://72.14.203.104/search?q=cache:uflSEp5vNhoJ:tumoutou.net/ppps70210245/suparno>, diakses 24 Nopember 2008.
7. Haedar,Nur., 2006, *Potensi Bakteri Simbion Spons Heliclona fascigera Dalam Menghasilkan Senyawa Antimikroba*, Jurusan Biologi FMIPA Unhas, Makassar.
8. Atmadja.W.S., 1996, *Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut*, Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta. 40, 45
9. Anonim, 2002, *Pusat Riset Pengolahan Produk & Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan*, Forum Rumput Laut.
10. Verheij, E., 1993, *Marine Plants On The Reef of Spermonde Archipelago, SW Sulawesi Indonesia : Aspects of Taxonomy Floristics and Ecology*, Rijksherbarium-Hortus Botanicus, Leiden, Nederlands.

11. Djide, M.N, 2003, Mikrobiologi Farmasi, Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin. 93, 96
12. Tjay, T.H., Rahardja, K., 2002, Obat-obat penting Edisi V, Cetakan I, Penerbit PT. Elex Media Komputindo, kelompok Gramedia, Jakarta. 63
13. Ganiswara, S.G., dkk., 1945, Farmakologi dan Terapi Edisi Empat, Bagian Farmakologi FK-UI, Jakarta. 571-583, 651
14. Baker. E., 1974, Handbook of Bacteriological Technique, second Edition, West Minter Medical School, London. 67-75
15. Ditjen POM., 1995, Farmakope Indonesia, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 410, 850, 896
16. Buchanan R.E and Gibbons N.E, 1974, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Eight Edition, Williams and Wilkins Company, Baltimore.
17. Jenkins G.L., Francke D.E., Brecht E. A., Sperandjo G.S., 1957, Scoville's The Art of Compounding, 9th edition, MC graw Hill Book Company, London. 403-405
18. Lay, W.B., 1994, Analisis Mikroba di Laboratorium, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta. 24, 30.
19. Merck., 1988, Culture Medium Handbook, E. Merck-Frankfurter Strasse, 250-961, Darmastat-I Federal Republik of Germany. 123,124, 130, 143, 159
20. Suwandi U., 1993, Mikroorganisme Penghasil Antibiotik, Cermin dunia kedokteran, No. 89. <http://www.kalbe.co.id/Perkembanganantibiotik>, diakses 10 April 2009.
21. Waluyo, L., 2005, Mikrobiologi Lingkungan, Universitas Muhammadiyah Malang Press. 288-300
22. Haslm., 2003, Menanam Rumput Memanen Antibiotik, <http://www.Unisoderm.org.co.id/MenanamRumputMemanenAntibiotik>, diakses 10 April 2009.

LAMPIRAN I

SKEMA KERJA ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SIMBION

Caulerpa racemosa var uvifer



LAMPIRAN II

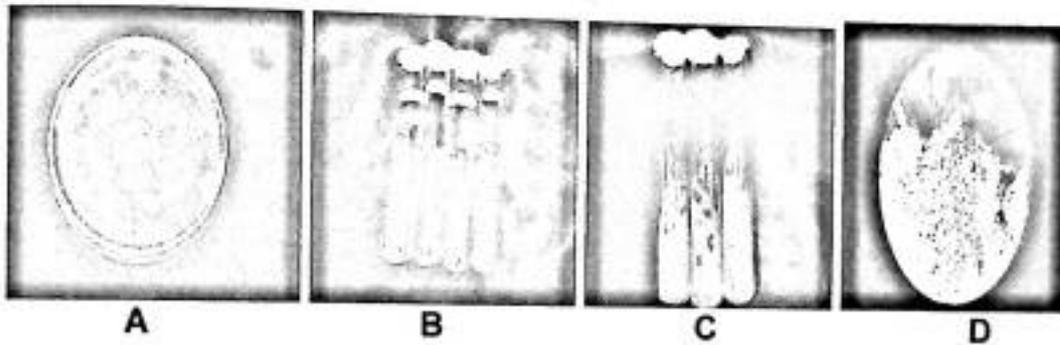
KOMPOSISI MEDIA YANG DIGUNAKAN

NO	NAMA MEDIUM	KOMPOSISI MEDIUM
1.	Medium Marine Broth	Bacteriological 5 gram, Yeast extract 1 gram, Sodium chloride 19,4 gram, Magnesium chloride 8,8 gram, Sodium sulfate 3,24 gram, Calcium chloride 1,8 gram, Pottasium chloride 0,55 gram, Sodium bicarbonate 0,16 gram, Ferric citrate 0,10 gram, Pottasium Bromide 0,08 gram, Strontium chloride 0,043 gram, Boric acid 0,022 gram, Soium Silicate 0,004 gram, Sodium floride 0,0024 gram, Ammonium nitrate 0,0016 gram, Dissodium phosphate 0,008 gram, air suling ad 1000 ml
2.	Medium Produksi	Glukosa 20,0 gram, pati terlarut 10,0 gram, dekstrosa 1,0 gram, tepung kedelai 25,0 gram, ekstrak ragi 1,0 gram, NaCl 2,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH $7,0 \pm 0,2$
3.	Medium Simons Citrat Agar	Pepton 10,0 gram, D(+) glukosa 40,0 gram, agar 15,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH $5,6 \pm 0,1$
4.	Methyl Red Broth – Vogest Proskauer Broth	Pepton From meat 7,0 gram, D(+) Glucosa 5,0 gram, Phosfate buffer 5,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH $6,9 \pm 0,1$
5.	Muller Hinton Agar (MHA)	Infus daging 2,0 gram, casein hidrolisat 1,5 gram, pati 1,5 gram, agar 13,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH $7,4 \pm 0,1$
6.	Medium Kighler Iron Agar	Pepton dari casein 15,0 gram, pepton dari jaringan hewan 15,0 gram, ekstrak ragi 3,0 gram, pepton 20,0 gram, NaCl 5,0 gram, laktosa 10,0 gram, sukrosa 10,5 gram, ammonium besi (III) sitra 0,5 gram, natrium tiosulfat 0,3 gram, merah fenol 0,024 gram, agar 12,0 gram, air suling ad 1000 ml. pH $7,4 \pm 0,2$

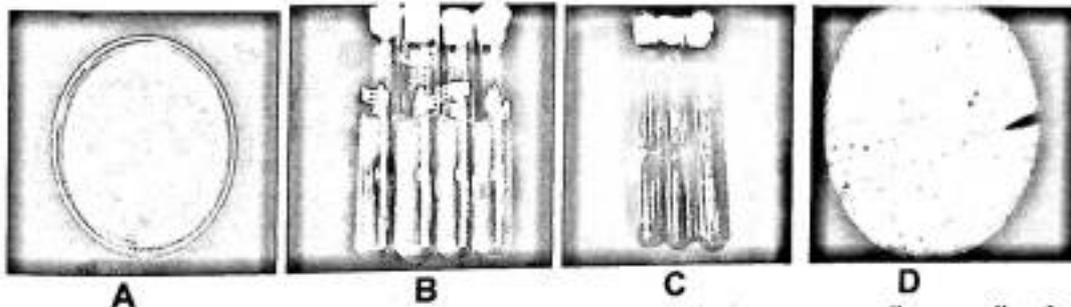


LAMPIRAN III

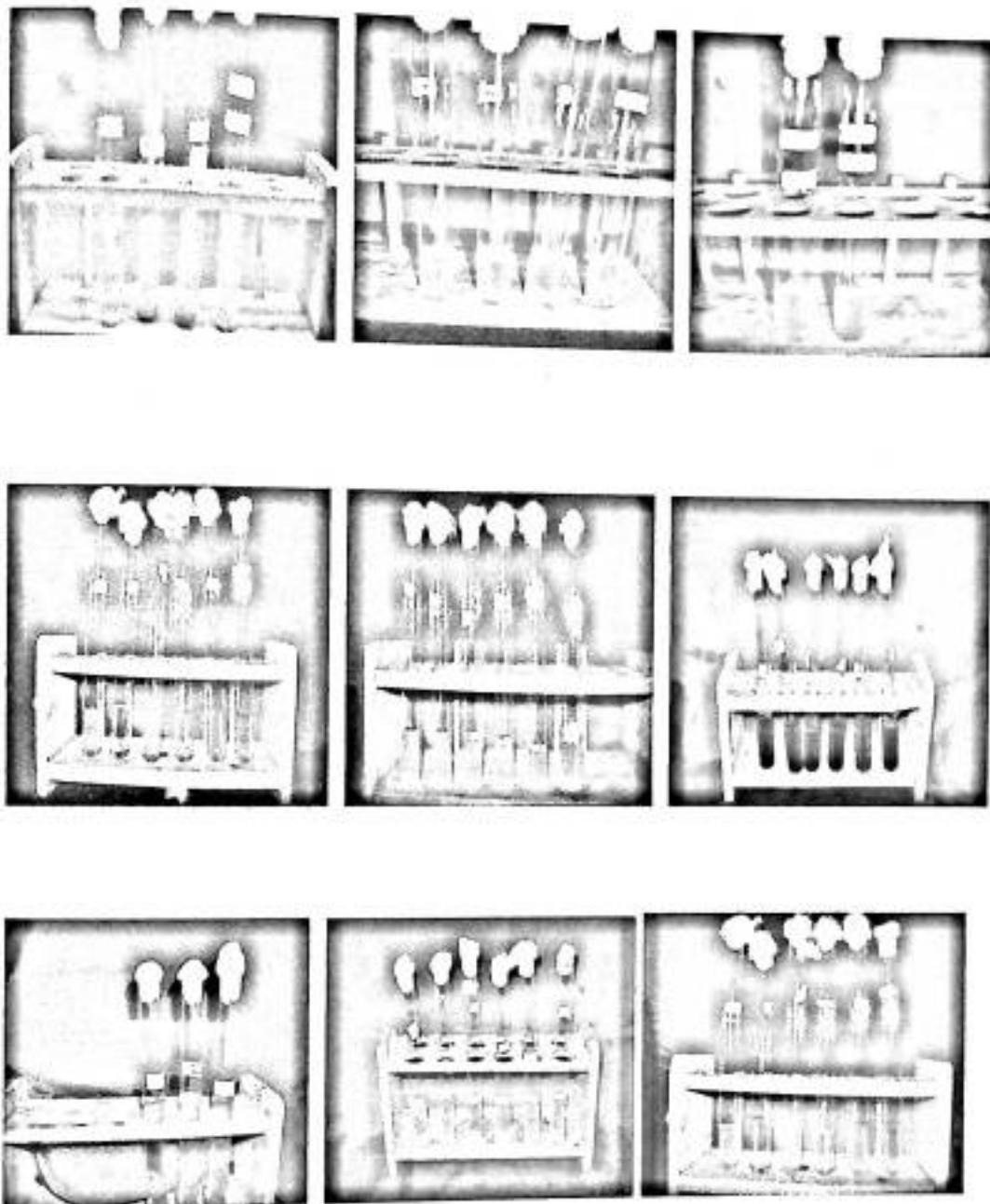
Foto-Foto Pelaksanaan dan Hasil Penelitian



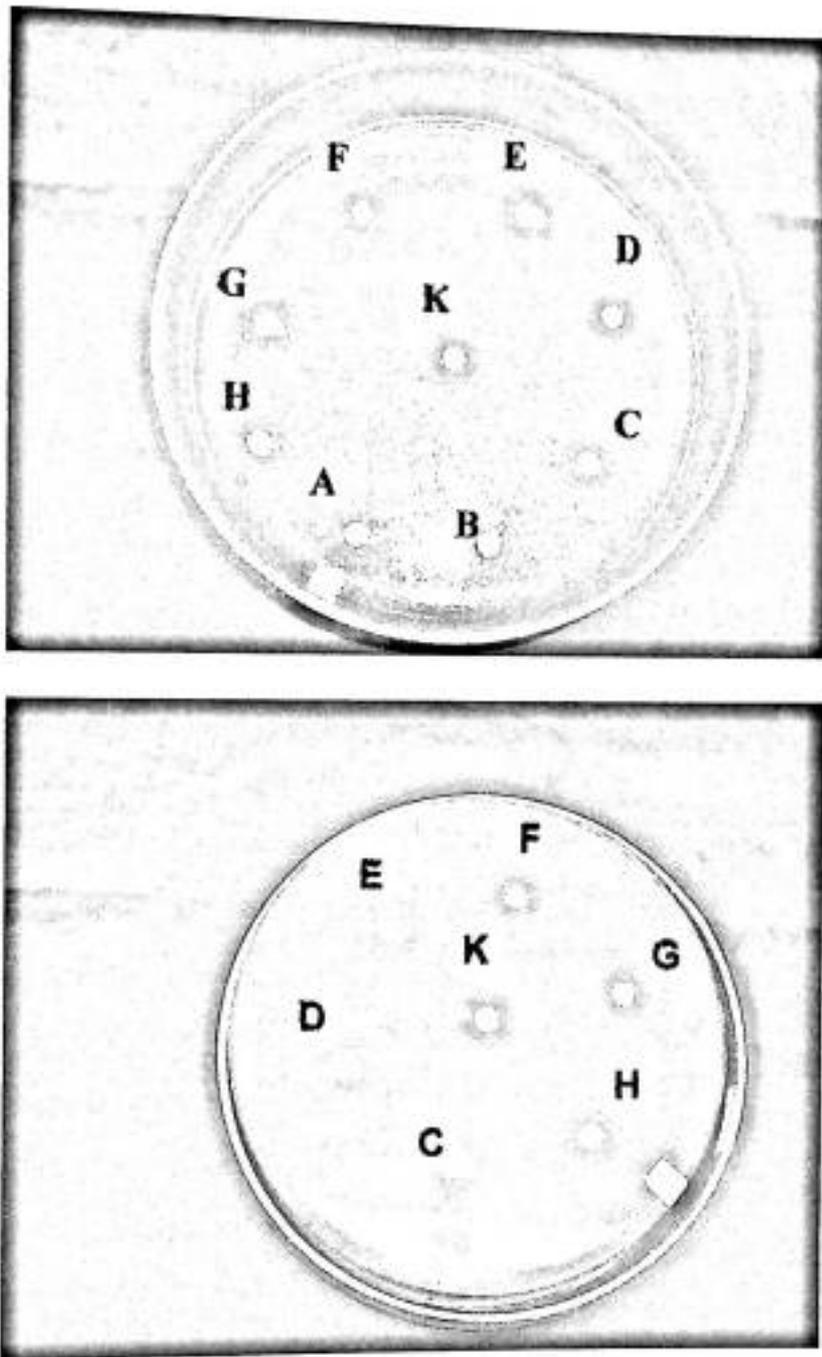
Gambar 1. Foto pertumbuhan isolat Cr₁ pada beberapa media A = Medium Marine Agar, B = Medium Salenite indol motility, C = Medium Simmons Citrat Agar, D = morfologi secara mikroskopik dengan pembesaran 100x



Gambar 2. Foto pertumbuhan isolate Cr₂ pada beberapa media, media A = medium marine agar, media B = , medium Salenite indol motility, C = medium simmons citrate agar, medium D = morfologi secara mikroskopik dengan pembesaran 100x



Gambar 3. Foto hasil biokimia dengan berbagai media karakterisasi untuk isolat Cr₁ dan Cr₂.

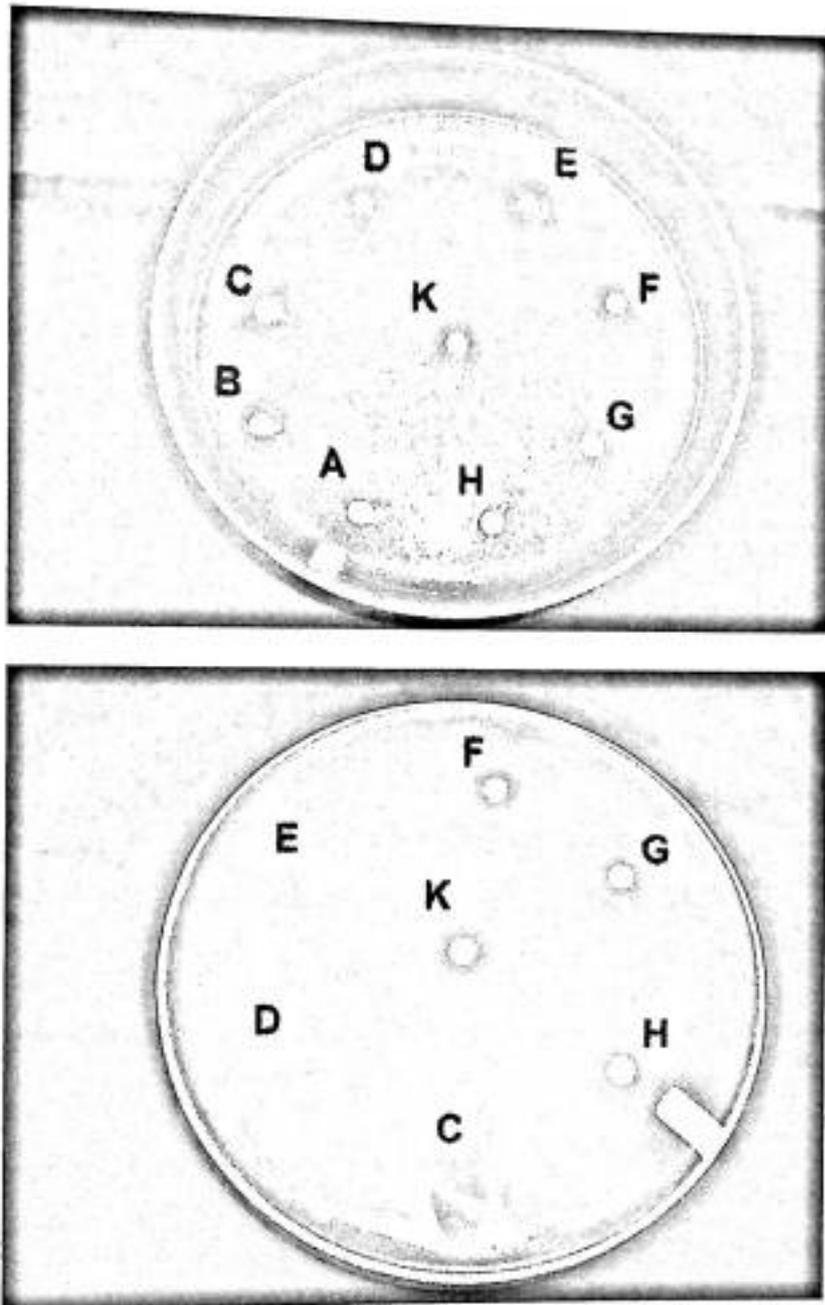


Gambar 4. Daya hambat dari aktivitas antibiotic hasil fermentasi bakteri simbion *Caulerpa racemosa var uvifera* isolat Cr₁ (atas) dan isolat Cr₂ (bawah) pada bakteri uji *Escherichia coli*.

Keterangan :

K = Kontrol
 A = Hari pertama
 B = Hari kedua
 C = Hari ketiga
 D = Hari keempat

E = Hari kelima
 F = Hari keenam
 G = Hari ketujuh
 H = Hari kedelapan

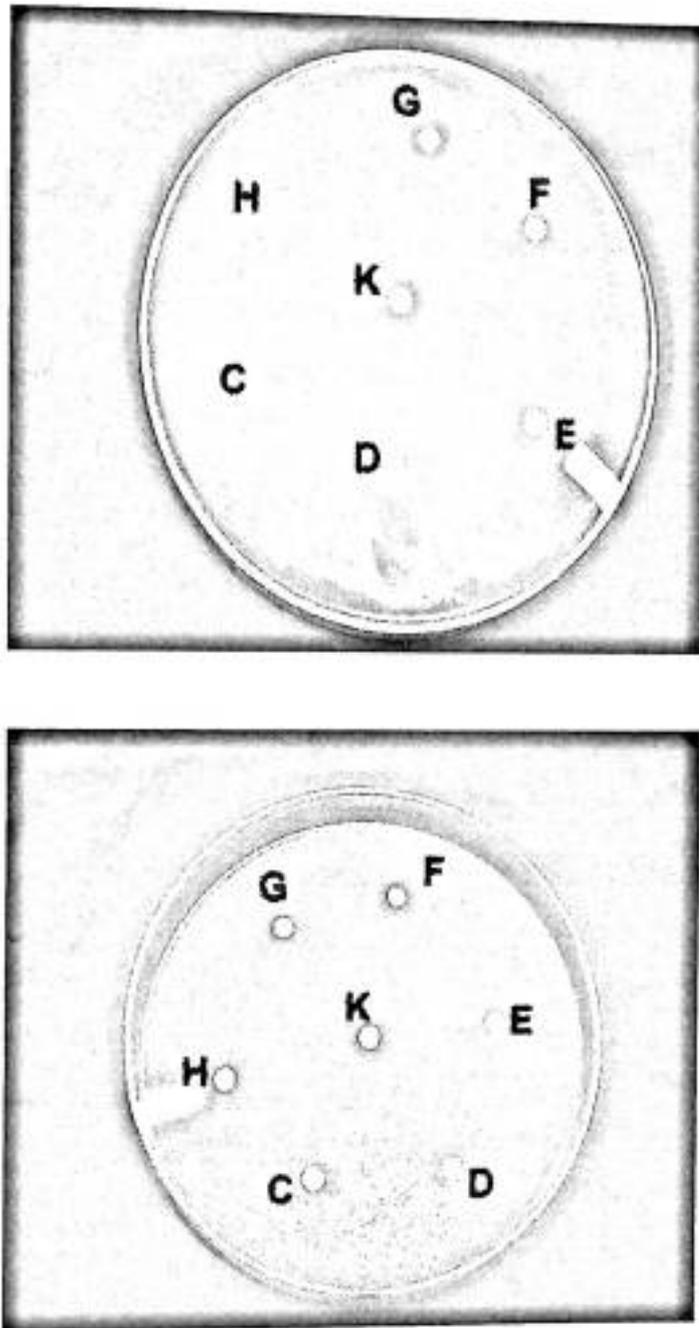


Gambar 5 . Daya Hambat dari aktivitas antibiotika hasil fermentasi bakteri simbion *Caulerpa racemosa* var. *uvifera* isolat Cr₁ (atas) dan isolat Cr₂ (bawah) pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*.

Keterangan :

K = Kontrol tetracycline
 A = Hari pertama
 B = Hari kedua
 C = Hari ketiga
 D = Hari keempat

E = Hari kelima
 F = Hari keenam
 G = Hari ketujuh
 H = Hari kedelapan



Gambar 6. Daya Hambat dari aktivitas antibiotika hasil fermentasi bakteri simbion *Caulerpa racemosa var uvifera* isolat Cr₁ (atas) dan isolat Cr₂ (bawah) terhadap mikroba uji *Bacillus subtilis*.

Keterangan :

K = Kontrol

C = Hari ketiga

D = Hari keempat

E = Hari kelima

F = Hari keenam

G = Hari ketujuh

H = Hari kedelapan