

**SKRINING SENYAWA ANTIBAKTERI DARI
Caulerpa sertularioides (GMELIN) HOWE ASAL PERAIRAN SEKITAR
PULAU LAE-LAE KECAMATAN UJUNG PANDANG MAKASSAR**

**DIA ARIZAH
H 41104018**



| | |
|-------------|-------------|
| Tgl. Terbit | 23 - 2 - 09 |
| Asal Dari | MLPA |
| Geografis | 1 MS |
| Uraian | Wafiq |
| | 39 |
| | SICK - MPOG |
| | ARI |
| | 3 |

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2009

SKRIPSI

OLEH :

DIA ARIZAH

H411 04 018



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2009

**SKRINING SENYAWA ANTIBAKTERI DARI
Caulerpa sertularioides (GMELIN) HOWE ASAL PERAIRAN SEKITAR
PULAU LAE-LAE KECAMATAN UJUNG PANDANG MAKASSAR**

**OLEH
DIA ARIZAH
H411 04 018**

*Skripsi untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat untuk
memperoleh gelar sarjana*

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2009

**SKRINING SENYAWA ANTIBAKTERI DARI
Caulerpa sertularioides (GMELIN) HOWE ASAL PERAIRAN SEKITAR
PULAU LAE-LAE KECAMATAN UJUNG PANDANG MAKASSAR**

Disetujui Oleh :


Pembimbing Utama



Dra. Risco B. Gobel, MS

Nip : 131 785 082

Pembimbing Pertama



Dra. Sartini, M.Si

Nip : 131 696 792

Pembimbing Kedua



Eddyman W. Ferial, S.Si, M.Si

Nip : 132 164 041

Makassar, Januari 2009

PRAKATA



Assalamu 'Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Sebagai rasa ketundukan dan kepercayaan terhadap ke-Esaan Allah Subhanahu Wa Ta'ala, sepantasnya penulis mengucapkan rasa puji dan syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas limpahan berkah dan rahmat-Nya jualah sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi ini.

Ruang dan waktu tidak akan pernah cukup untuk mengekspresikan perasaan penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini. Berbagai hal yang dialami penulis menjadi demikian berarti, sindirian, pujian, rasa senang dan kecewa yang dialami menjadi sesuatu hal yang istimewa karena merupakan manifestasi cinta kawan-kawan, orang-orang terkasih dan saudara-saudara sejati. Keakraban dan kebersamaan yang ditujukan memotivasi penulis untuk segera menyelesaikan skripsi ini sebagai syarat untuk memperoleh status sosial yang berbeda dari sebelumnya.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih secara khusus teriring sujud kepada Ayahanda tercinta **Hamzah Lau, SH** dan Ibunda tercinta **Arifah** atas segala pengorbanan dalam membesarkan, membimbing, dan memberikan yang terbaik tanpa pamrih kepada penulis serta terus-menerus mendoakan dengan penuh cinta kasih.

Terima kasih pula kepada kakakku tercinta Arham dan adikku tersayang Ainun dan Fitrah atas doa dan dukungannya yang selalu menjadi semangat penulis untuk segera menyelesaikan skripsi ini.

Izinkan pula penulis mengucapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat Bapak/Ibu :

- Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Drs. Karunia Alie, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Dra. Risco B. Gobel, MS, Dra. Sartini, M.Si dan Eddyman W. Ferial S.Si, M.Si, sebagai dosen pembimbing yang telah meluangkan waktunya dengan penuh perhatian dan keikhlasan untuk memberikan bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
- Staf dosen biologi atas bimbingan dan petunjuk serta ilmu yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan.
- Ir. Slamet Santosa, selaku penasehat akademik atas bimbingan dan arahnya selama penulis menjalani proses belajar.
- Saudara seperjuanganku, mahasiswa Biologi angkatan 2004 dan semua saudariku tercinta, "akhwaat IKRAMAL, FUMM, US". Terima kasih atas bantuan, nasehat dan kebersamaannya selama ini.

Demikian skripsi ini, penulis berharap semoga dapat memberikan manfaat bagi kita semua dan untuk perkembangan ilmu pengetahuan . Akhir kata, penulis menyadari banyaknya kesalahan dalam penyusunan skripsi ini maka saran untuk perbaikan ke depan sangat diharapkan.

Amin Yaa Rabbal Alamin

Makassar, Januari 2009

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang Skrining Senyawa Antibakteri dari *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe Asal Perairan Pulau Lae-Lae Kecamatan Ujung Pandang Makassar yang bertujuan untuk mendapatkan dan mengidentifikasi senyawa antibakteri dari *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe. Penelitian ini meliputi ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan cairan penyari metanol dan penyari heksan. Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 10%, 1%, 0,1% dan DMSO (Dimetil-sulfooksida) sebagai pelarut dan kontrol negatif. Pengukuran diameter hambatan yang terbentuk dari ekstrak *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan metode difusi pada medium Mueller-Hinton-Agar (MHA) dengan waktu inkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C. Pemisahan senyawa dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), penentuan noda aktif dengan metode KLT-Bioautografi kontak dan identifikasi dengan menggunakan pereaksi kimia. Pemisahan senyawa secara KLT untuk ekstrak metanol diperoleh 3 noda dengan nilai Rf 0,75, Rf 0,67, dan Rf 0,55, dan untuk ekstrak heksan diperoleh 2 noda dengan nilai Rf 0,92, dan Rf 0,63. Penentuan noda aktif dengan KLT-Bioautografi pada ekstrak metanol dengan eluen heksan:etilasetat (4:1) diperoleh 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,67 yang tergolong senyawa terpenoid. Penentuan noda aktif dengan KLT-Bioautografi pada ekstrak heksan dengan eluen heksan:etilasetat (3:1) diperoleh 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,63 yang tergolong senyawa steroid.

Kata kunci : *Caulerpa sertularioides*, Skrining, KLT-Bioautografi.

ABSTRACT

A research about Screening for Chemical Compound of Anti-bacteria of *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe from Lae-Lae Island Makassar has been done in order to getting and identify the chemical compound of Antibacteria of *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe. This research pervades on extract with maserasi method using the liquid are 10%, 1%, 0,1% and using DMSO as a disolvent and negative control. The measurement of resistance diameters which formed by the extract of *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* was done by diffusion method at Mueller-Hinton-Agar (MHA) with incubated during 24 hours at the temperature of 37°C. Screening by TLC-Analysing, active compound was detected by TLC-contact Bioautografic and identification by chemical reactions. TLC-Analysing for methanol extract obtains 3 stain with Rf 0,75, Rf 0,67, and Rf 0,55 and for hexane extract obtains 2 stain with Rf 0,92, and Rf 0,63. Dissosiation by TLC-Bioatografic with eluen hexane:etilasetat (4:1) obtains 1 active stain with Rf 0,67 to obtain terpenoid. Dissociation by TLC-Bioautografic with eluen hexane:etilasetat (3:1) obtain 1 active stain with Rf 0,63 to obtain steroid.

Key word : *Caulerpa sertularioides*, Screening, TLC-Bioautografic.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|----------|
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| PRAKATA | iv |
| ABSTRAK..... | vii |
| ABSTRACT | vii |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR TABEL..... | xii |
| DAFTAR GAMBAR..... | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| I.1 Latar Belakang | 1 |
| I.2 Tujuan Penelitian | 2 |
| I.3 Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| II.1. Uraian Umum <i>Caulerpa sertularioides</i> | 4 |
| II.1.1 Klasifikasi dan Morfologi | 4 |
| II.1.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan | 5 |
| II.1.3 Kandungan Senyawa Kimia <i>Caulerpa sertularioides</i> | 6 |
| II.2. Uraian Mikroba Uji | 8 |
| II.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 |
| II.2.2 <i>Salmonella typhi</i> | 10 |

| | |
|---|-----------|
| II.3. Uraian Umum Antimikroba | 11 |
| II.3.1 Mekanisme Kerja Antibakteri | 13 |
| II.4 Ekstraksi Senyawa Bahan Alam | 15 |
| II.5 Pengujian Daerah Hambatan Antimikroba | 16 |
| II.6. Metode Pemisahan | 18 |
| II.5.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) | 18 |
| II.5.2 Metode Bioautografi | 20 |
| II. 7 Identifikasi Hasil KLT Dengan Pereaksi Kimia | 22 |
| BAB III. METODOLOGI PENELITIAN | 23 |
| III.1. Alat | 23 |
| III.2. Bahan | 23 |
| III.3. Metode Kerja | 24 |
| III.3.1 Sterilisasi Alat dan Medium | 24 |
| III.3.2 Pengambilan Sampel dan Ekstraksi | 24 |
| III.3.3 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak | 25 |
| III.3.4 Pembuatan Medium..... | 25 |
| III.3.5 Penyiapan Bakteri Uji | 26 |
| III.3.6 Uji Daya Hambat | 27 |
| III.3.7 Pemisahan Senyawa Secara KLT | 27 |
| III.3.8 Pengujian KLT-Bioautografi | 28 |
| III.3.9 Uji Identifikasi Menggunakan Pereaksi Kimia | 28 |
| III.3.10 Pengamatan | 29 |
| III.4 Analisis Data | 29 |

| | |
|---|-----------|
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 30 |
| IV. 1. Penentuan Daerah Hambatan | 30 |
| IV. 2. Pemisahan dengan KLT | 34 |
| IV. 3. Pengujian Secara KLT-Bioautografi Kontak | 37 |
| IV. 4. Identifikasi dengan Pereaksi Kimia | 40 |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN | 43 |
| V. 1. Kesimpulan | 43 |
| V. 2. Saran | 43 |
| DAFTAR PUSTAKA | 44 |
| LAMPIRAN | 45 |

DAFTAR TABEL



| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 1. Produk alam dari beberapa jenis <i>Caulerpa</i> | 7 |
| 2. Data pengukuran daerah hambatan | 30 |
| 3. Hasil pemisahan KLT <i>Caulerpa sertularioides</i> | 35 |
| 4. Hasil KLT-Bioautografi <i>Caulerpa sertularioides</i> | 37 |
| 5. Hasil identifikasi ekstrak <i>Caulerpa sertularioides</i> | 40 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. Sampel <i>Caulerpa sertularioides</i> | 5 |
| 2. <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 |
| 3. <i>Salmonella typhi</i> | 9 |
| 4. Mekanisme Antimikroba Menghambat Sintesis Protein..... | 13 |
| 5. Mekanisme Antimikroba Mengubah Permeabilitas Membran Sel | 14 |
| 6. Mekanisme Penghambatan Sintesis Dinding Sel | 15 |
| 7. Grafik pengukuran daya hambat ekstrak metanol | 31 |
| 8. Grafik pengukuran daya hambat ekstrak heksan | 31 |
| 9. Daerah hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> | 33 |
| 10. Daerah hambatan terhadap <i>Salmonella typhi</i> | 33 |
| 11. KLT Ekstrak Metanol dengan penampakan sinar UV 366 nm | 35 |
| 12. KLT Ekstrak Heksan dengan penampakan sinar UV 366 nm | 36 |
| 13. Bioautogram Ekstrak Metanol Terhadap <i>Salmonella typhi</i> | 38 |
| 14. Bioautogram Ekstrak Heksan Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> | 39 |
| 15. Kromatogram ekstrak metanol dengan pereaksi Libermann-Buchard | 41 |
| 16. Kromatogram ekstrak heksan dengan pereaksi Libermann Buchard | 41 |
| 17. Kromatogram penyari metanol dan heksan terhadap pereaksi Vanilin- sulfat..... | 42 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Gambar <i>Caulerpa sertularioides</i> | 46 |
| 2. Skema kerja ekstraksi sampel | 47 |
| 3. Skema pengujian mikrobiologi (uji daya hambat)..... | 48 |
| 4. Skema kerja pengujian KLT-Bioautografi | 49 |
| 5. Contoh cara perhitungan nilai Rf | 50 |

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan dengan panjang garis pantai 81.000 km merupakan kawasan pesisir dan lautan yang memiliki berbagai sumber daya hayati yang sangat besar dan beragam. Salah satu kekayaan laut Indonesia adalah sumber daya alam hayati seperti berbagai jenis makroalga (Dahuri , 2000).

Pemanfaatan produk alam dari makroalga yang memiliki kandungan metabolit yang berkhasiat sebagai antibakteri memberikan prospektif yang sangat baik bagi kemajuan kesehatan masyarakat. Berbagai hasil penelitian menunjukkan banyaknya kandungan substansi aktif dalam makroalga. Dalam kurun waktu 1977-1997 telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi sebanyak 2500 produk alam laut bersifat bioaktif dan 30% diantaranya berasal dari makroalga. Beberapa makroalga yang berasal dari perairan Indonesia memiliki senyawa aktif yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen salah satunya adalah spesies *Caulerpa* (Atmadja, 1996).

Saat ini, seluruh dunia telah mengalami berbagai masalah kesehatan akibat resistensi bakteri terhadap antibiotik. Penyalahgunaan antibiotik, berupa pemberian antibiotik yang tidak tepat, tidak sesuai dosis, dan tanpa pengawasan dokter ternyata telah membuat banyak jenis bakteri menjadi kebal terhadap antibiotik. Beberapa bakteri patogen misalnya *Staphylococcus aureus* telah

resisten terhadap banyak antibiotik dan infeksiya menjadi sulit ditangani. Hal ini dapat terjadi karena bakteri dapat bermutasi sehingga dapat kebal terhadap antibiotik tersebut (Leman, 2004).

Penelitian yang dilakukan oleh Rianinda (2007), diperoleh bahwa ekstrak *Caulerpa racemosa* var. *uvifera* (Turner) Weber Van Bosse mengandung senyawa antibakteri yang ternyata dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, seperti bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis*. Penelitian lain yang menggunakan *Caulerpa sertularioides* dari Teluk Persia menunjukkan bahwa ekstrak *C. sertularioides* ini mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* and *E. coli* pada konsentrasi 34 mg/ml dan 27,2 mg/ml (Tajbakhsh, 2008).

Berdasarkan pada hal-hal tersebut, maka dilakukanlah penelitian Skrining Senyawa Antibakteri dari *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe Asal Perairan Sekitar Pulau Lae-Lae Kecamatan Ujung Pandang Makassar.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan dan mengidentifikasi senyawa antibakteri dari *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah bagi peneliti dalam pemanfaatan *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe sebagai penghasil antibakteri di masa yang akan datang.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2008 sampai bulan November 2008. Pengambilan sampel dilakukan di perairan sekitar Pulau Lae - Lae, kecamatan Ujung Pandang, Makassar. Sedangkan pengerjaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.

BAB II

TINJUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Umum *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe

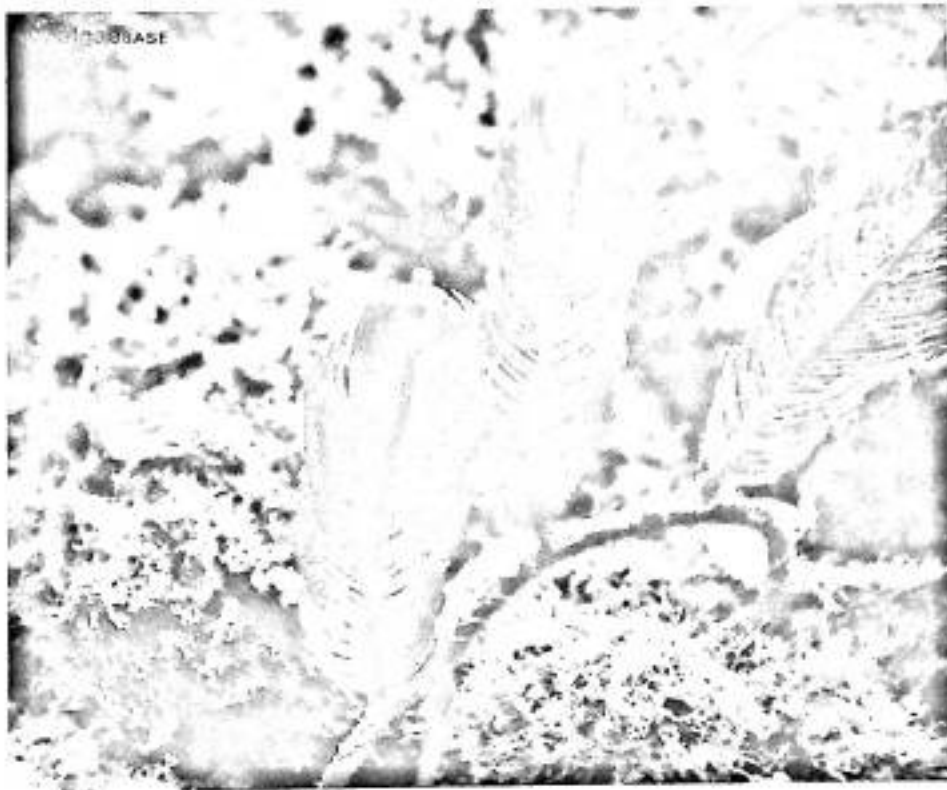
Caulerpa sertularioides merupakan salah satu jenis dari ganggang hijau (Chlorophyta). Sel-sel ganggang hijau mempunyai kloroplas yang berwarna hijau, mengandung klorofil-a dan b serta karotenoid. Pada kloroplas terdapat pirenoid, hasil asimilasi berupa tepung dan lemak. Mempunyai stolon, rhizoid untuk melekat pada substrat dan assimilator seperti bulu. Tumbuh merambat pada substrat batu atau pasir. Memiliki sebaran tumbuh yang luas di daerah tropis seperti di sekitar perairan Indonesia (Tjitrosoepomo, 2003).

II.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe

Berikut ini adalah klasifikasi *Caulerpa sertularioides* (Verheij, 1993) :

| | |
|---------|--|
| Regnum | : Plantae |
| Divisi | : Thallophyta |
| Classis | : Clorophyceae |
| Ordo | : Caulerpales |
| Familia | : Caulerpacceae |
| Genus | : Caulerpa |
| Spesies | : <i>Caulerpa sertularioides</i> (Gmelin) Howe |

Caulerpa sertularioides terdiri atas thallus yang membentuk stolon merambat dengan rhizoid untuk menancap ke substrat. Asimilator berbentuk seperti bulu terdapat pada stolon antara perakaran. Warna hijau muda atau hijau tua karena mengandung klorofil (Anonim, 2001).



Gambar 1. *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe.

Photographer: PASKelton © ORDA (05 Dec 2004)

II.1.2 Faktor-Faktor yang mempengaruhi Pertumbuhan *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe

Caulerpa sertularioides umumnya hidup di perairan laut tropis dekat pantai. Cahaya matahari merupakan sumber energi yang sangat diperlukan dalam proses fotosintesis. Sehingga kedalaman yang baik untuk pertumbuhannya sekitar 1-3 meter agar tetap mendapatkan cahaya matahari. Penyerapan cahaya matahari

dapat terjadi karena adanya pigmen fotosintesis dan pigmen asesoris. Pigmen asesoris berperan dalam menerima energi cahaya matahari untuk ditransfer ke klorofil. Hal tersebut bertujuan untuk mengubah energi cahaya menjadi energi biokimia dalam bentuk karbohidrat (Graham, 2000).

Suhu merupakan salah satu faktor utama yang mempengaruhi laju pertumbuhan *Caulerpa sertularioides*. Kisaran suhu normal untuk pertumbuhan *Caulerpa sertularioides* adalah 25 - 35°C. Suhu optimum yang sesuai untuk pertumbuhan *Caulerpa sertularioides* di perairan laut tropis adalah 25°C. Sedangkan kisaran salinitas optimum untuk pertumbuhan *Caulerpa sertularioides* antara 33 - 40‰ (Bold, 1978).

Derajat keasaman perairan juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *Caulerpa sertularioides*. Nilai pH sangat menentukan molekul karbon yang dapat digunakan *Caulerpa sertularioides* untuk fotosintesis (Graham, 2000).

II.1.3 Kandungan Senyawa Kimia *Caulerpa sertularioides*

Dari penelitian yang dilakukan oleh Rahmaniari (1995), diketahui bahwa ekstrak dari *Caulerpa sp* dapat menghasilkan Caulerpicin yang berkhasiat sebagai antibakteri dan anti jamur (Atmadja, 1996).

Produk alam yang dihasilkan oleh beberapa jenis *Caulerpa* dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Produk Alam dari beberapa jenis *Caulerpa*

| No | Nama Spesies | Produk Alam |
|-----|---------------------------------------|---|
| 1. | <i>Caulerpa racemosa</i> | Caulerpicin, Caulerpin, Glycine |
| 2. | <i>Caulerpa sertularioides</i> | Caulerpicin, Caulerpin, Palmitic |
| 3. | <i>Caulerpa bikinensis</i> | Acid, β -sitosterol Monocyclo-1, 12-diacetoxy farnesol Monocyclo-1,12-diacetoxy farnesane |
| 4. | <i>Caulerpa brownie</i> | Monocyclofarnesyl- α,β - unsaturated- γ -hydroxylactone |
| 5. | <i>Caulerpa flexilis</i> | Caulerpol |
| 6. | <i>Caulerpa flexilis var muelleri</i> | Flexilin, Tritarin (1E,3E)-2-(2 ¹ ,6 ¹¹ 6 ¹¹ - trimethylcyclohex-2 ¹¹ -enyl) ethyl buta-1,3-diene-1,4-diyl diacetate |
| 7. | <i>Caulerpa lamourouxii</i> | |
| 8. | <i>Caulerpa okamurai</i> | (2E)-3-formul-5-(2 ¹ ,6 ¹ ,- trimethylcyclohex-2 ¹¹ -enyl)pent-2- enyl diacetate |
| 9. | <i>Caulerpa peltata</i> | |
| 10. | <i>Caulerpa prolifera</i> | Caulerpicin, Caulerpin, Cholesterol, Palmitic acid, β -sitosterol, Taraxerol |
| 11. | <i>Caulerpa simpliciuscula</i> | Taurine |
| 12. | <i>Caulerpa trifaria</i> | Alanine, β -Alanin, Glutamic acid, Glutamine, Glycine, Isoleucine, Serine, Threonine, Valine. Caulerpenyne, Furocaulerpin, Siphonaxanthin, Siphonein, Squalene-6,7-epoxide, Squalene-10, 11-epoxide, (S)-(-)-all-trans- squalene-2,3-epoxide, Amino acid (exogeneous), Amino acid (endogenous), Flexilin, Trifarin |

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kandungan kimia *Caulerpa sertularioides* (Vahl) C. Agardh (Caulerpaceae), lima senyawa telah diisolasi dari ekstrak n-heksana yaitu kaulerpin, β -sitosterol, asam palmitat dan dua senyawa lain yang diduga sebagai steroid dan hidrokarbon. Dari ekstrak etilasetat diisolasi kaulerpin dan siklotetradekana. Dari ekstrak metanol diisolasi kaulerpin dan suatu senyawa yang diduga hidrokarbon tidak jenuh. Dari ekstrak diklorometana-metanol (1:1) diperoleh kaulerpin (Anam, 1996).

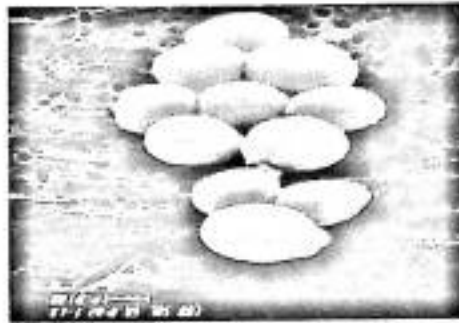
II.2. Uraian Mikroba Uji

II.2.1 *Staphylococcus aureus*

- **Klasifikasi, Morfologi dan Sifat *Staphylococcus aureus***

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut George Garrity (2000):

| | |
|---------|--------------------------------|
| Domain | : Bacteria |
| Pylum | : Schyzomycetales |
| Class | : Bacilli |
| Ordo | : Bacilales |
| Family | : Stapylococcaceae |
| Genus | : Staphylococcus |
| Spesies | : <i>Staphylococcus aureus</i> |



Gambar 2 . *Staphylococcus aureus*

(Sumber: Silverman *et al*, 2003)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, berbentuk bulat (coccus), terdapat bergerombol seperti buah anggur, tidak tahan asam, dan tidak bergerak (motil). Diameternya 0,8 - 0,1 mikron, tidak berspora, tersusun seperti rantai pendek. Batas-batas suhu untuk pertumbuhannya yaitu 15 ⁰C dan 40 ⁰C, tumbuh optimal dalam keadaan aerob, maupun anaerob fakultatif, pH optimum untuk pertumbuhan 7,0 - 7,5. Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat, diameter 1 - 2 mm, cembung, dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan pada medium agar miring. Pigmen yang terbentuk pada *Staphylococcus aureus* yaitu yang berwarna kuning keemasan (burrows, 1985).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan infeksi kulit dan keracunan makanan. Bakteri ini memproduksi eksoprotein yang dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu, kelompok enzim (koagulase, lipase, dan hialuronidase) dan kelompok eksotoksin (*toxic shock syndrome toxin* (TSST-1)). Eksoprotein enzimatis ini kemungkinan mempunyai fungsi utama dalam menyokong nutrisi untuk pertumbuhan bakteri, sedangkan eksotoksin berperan dalam menimbulkan

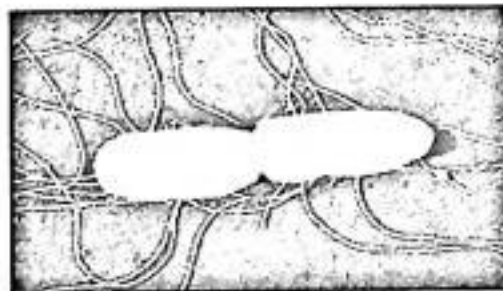
berbagai penyakit. Dilaporkan bahwa saat ini *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap antibiotik Penisilin dan infeksiya menjadi sulit ditangani (Yasmine, 2008).

II.2.2 *Salmonella typhi*

- Klasifikasi, Morfologi dan Sifat *Salmonella typhi*

Klasifikasi bakteri *S. typhi* menurut George Garrity (2000):

| | |
|---------|---------------------------|
| Domain | : Procaryotae |
| Phylum | : Proteobacteria |
| Class | : Gammaproteobacteria |
| Ordo | : Enterobacteriales |
| Family | : Enterobacteriaceae |
| Genus | : Salmonella |
| Species | : <i>Salmonella typhi</i> |



Gambar 3. *Salmonella typhi*

(Sumber: <http://id.wikipedia.org/wiki/Bakteri>)

Salmonella typhi adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang dengan panjang 2 - 3 μm , diameter 0,4 - 0,6 μm , semua spesies kecuali *Salmonella pullorum*, dan *Salmonella gallinarum* motil dengan flagel peritrik, tidak

berkapsul, motil, dan tidak membentuk spora (Pelczar, 1998). Bakteri *S. typhi* mempunyai kebutuhan nutrisi yang sederhana, tumbuh cepat dalam media sederhana. Bakteri ini adalah anaerob fakultatif, dapat tumbuh baik di bawah salah satu kondisi aerob atau anaerob (Burrows, 1993).

Bakteri dapat tumbuh pada suhu 15 – 41 °C (suhu pertumbuhan optimum 37 °C) dan pH pertumbuhan 6 - 8. Pada umumnya isolat bakteri *Salmonella* dikenal dengan sifat-sifat, gerak positif, reaksi fermentasi terhadap manitol dan sorbitol positif dan memberikan hasil negatif pada reaksi indol, laktosa, Voges Praskauer dan KCN (Burrows, 1993).

Bakteri ini merupakan penyebab utama diare kronik dan tifoid. Salmonellosis adalah istilah untuk menunjukkan adanya infeksi oleh bakteri *Salmonella*. Typhus abdominalis adalah penyakit infeksi akut pada usus halus yang biasanya lebih ringan dan menunjukkan manifestasi klinis yang sama dengan enteritis akut, oleh karena itu penyakit ini disebut juga penyakit demam enterik (Burrows, 1993).

II.3 Uraian Antimikroba

Antimikroba adalah zat atau senyawa yang dapat digunakan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroba. Antibakteri dapat digolongkan atas dasar mekanisme kerjanya yaitu (Ardiansyah, 2007) :

1. Bakteriostatik (Latin: stasis = menghentikan)

Adalah senyawa yang pada dosis biasa berkhasiat mematikan bakteri.

Bakteri yang terkena efek dari zat ini tidak bisa aktif lagi walaupun zat ini dihilangkan dari lingkungan bakteri itu. Misalnya penisilin, sefalosporin, dan antibiotika polipeptida (polimiksin, basitrasin, dan sebagainya)

2. Bakterisida (Latin: caedere = mematikan)

Adalah senyawa yang pada dosis biasa memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan atau perbanyak bakteri. Pertumbuhan atau perbanyak bakteri itu akan berlangsung kembali apabila efek dari zat atau senyawa tersebut dihilangkan. Misalnya sulfonamide, kloramfenikol, dan tetrasiklin.

Antimikroba dibedakan berdasarkan spektrum kerja terhadap mikroba, terdiri atas tiga yaitu spektrum sempit (bekerja pada mikroorganisme kelompok tertentu) misalnya, Isoniazid untuk mikobakteria, spektrum Sedang (bekerja pada bakteri Gram positif dan beberapa bakteri Gram negatif) misalnya, Ampisilin, dan spektrum Luas (pada spesies mikroba secara luas) misalnya Kloramfenikol & Tetrasiklin (Ardiansyah, 2007).

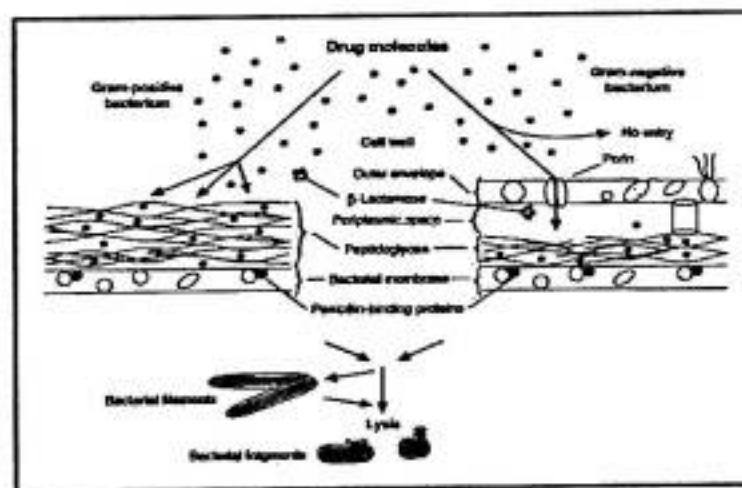
Beberapa kriteria yang harus dipenuhi untuk antimikrobia ideal yaitu harus menunjukkan toksisitas selektif artinya obat harus bersifat sangat toksik terhadap agen penyakit, tetapi relatif tidak toksik terhadap sel hospes, mempunyai spektrum luas, tetapi tidak melenyapkan flora mikroba alami pada inang dan tidak cepat menimbulkan resistensi serta memiliki taraf kelarutan yang tinggi dalam zat alir tubuh (Pelczar, 1988; Volk, 1993).

II.3.1 Mekanisme Kerja Antimikroba

Setiap jenis antimikroba memiliki mekanisme kerja utama yang spesifik. Mekanisme kerja utama antimikroba adalah sebagai berikut (Jawetz, *et al.* 2001; Suwandi, 1992) :

1. Merusak Dinding Sel

Struktur dinding sel dapat rusak dengan menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Perbedaan kepekaan bakteri gram positif dan gram negatif terhadap antibiotik tergantung pada perbedaan struktur dinding sel yang menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas antibiotik (Brooks *et al.*, 2005)



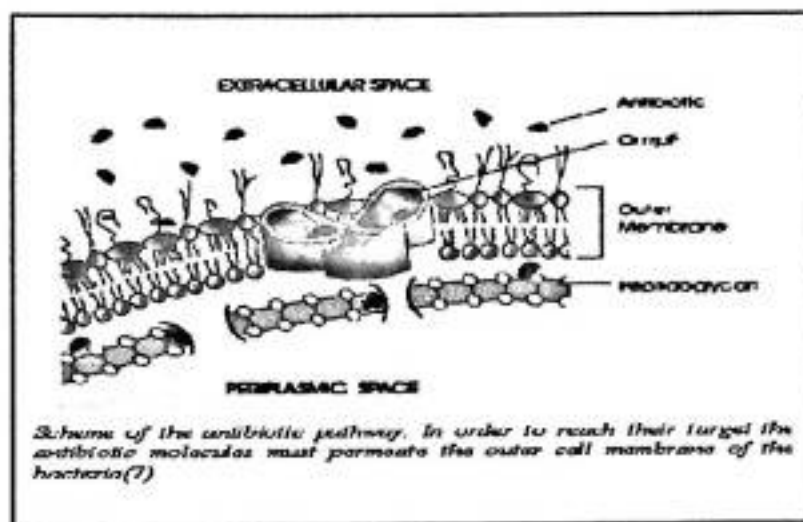
Gambar 4. Mekanisme Penghambatan Sintesis Dinding Sel

(Sumber : Neu H.C., 2008)

2. Mengubah Permeabilitas Sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel yang pada

akhirnya dapat menyebabkan kematian sel itu sendiri.



Gambar 5. Mekanisme Kerja Antimikroba Mengubah Permeabilitas Membran Sel (Nestorovich, 2002.)

3. Merusak Molekul Protein dan Asam Nukleat

Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang dapat mengubah keadaan ini, yaitu dengan cara mendeturasi protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel secara irreversible (tidak dapat balik). Dimana dengan suhu yang tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat menyebabkan koagulasi komponen-komponen seluler ini.

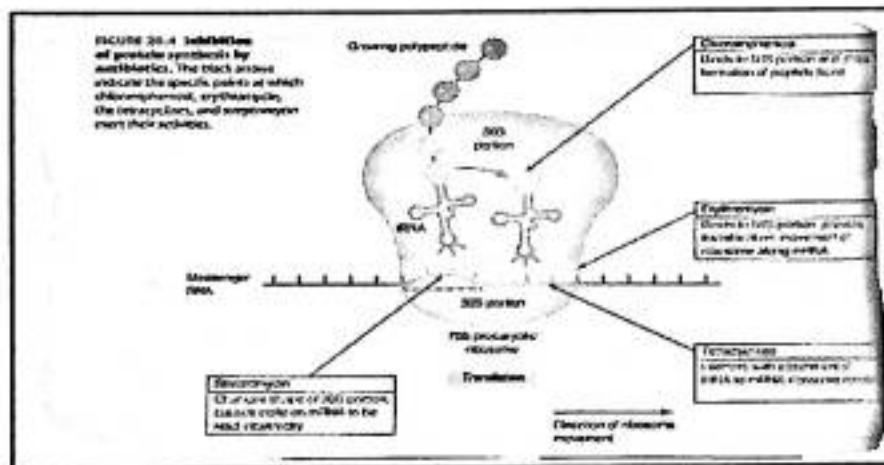
4. Menghambat Kerja Enzim

Enzim merupakan sasaran potensial bagi kerja suatu zat penghambat. Terhambatnya fungsi enzim dapat mengganggu reaksi biokimiawi yang akan mengganggu reaksi metabolisme sel.

5. Menghambat Sintesis Asam Nukleat dan Protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan penting di dalam proses

kehidupan normal sel. Hal ini berarti gangguan yang terjadi pada pertumbuhan atau pada fungsinya dapat menyebabkan kerusakan total pada sel.



Gambar 6. Mekanisme Antimikroba Menghambat Sintesis Protein (<http://www.cs.stedwards.edu/chem/Chemistry/CHEM43/CHEM43/Antibiotics/2GIF>)

II. 4 Ekstraksi Senyawa Bahan Alam

II.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi dimaksudkan yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dengan menggunakan pelarut organik. Proses ekstraksi didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (Harborne, 1987).

II.4.2 Ekstraksi Secara Maserasi

Maserasi adalah metode paling sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyarian selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Maserasi biasanya dilakukan beberapa tahap, mulai dari pelarut yang paling non-polar sampai pada pelarut yang paling polar. Biasa juga dilakukan dengan menggunakan pelarut polar seperti metanol secara langsung selanjutnya dilakukan partisi dengan pelarut yang ditingkatkan kepolarannya melalui proses ekstraksi (Murniasih, 2003; Harborne, 1987). Pemilihan sistem pelarut dipertimbangkan atas dasar *like dissolves like* yang berarti bahwa untuk memisahkan komponen yang bersifat non-polar digunakan sistem pelarut yang non-polar (Gritter et al, 1991).

Ekstraksi secara maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dengan derajat halus tertentu sebanyak 10 bagian dalam bejana maserasi yang ditambahkan dengan 75 bagian cairan penyaring (metanol) kemudian ditutup dan dibiarkan selama satu hari sambil sesekali diaduk. Hasil maserasi yang diperoleh kemudian disaring dan ampasnya ditambahkan lagi cairan penyaring. Proses maserasi dianggap selesai jika hasil identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) tidak lagi menampilkan noda (Anonim, 1986).

II.5 Pengujian Daerah Hambatan Antimikroba

Pengujian daerah hambatan antimikroba bertujuan untuk mengetahui besarnya daya hambat antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri uji pada medium.

- Metode Difusi Agar

Pada metode ini kemampuan antimikroba akan ditentukan berdasarkan hambatan yang terjadi. Beberapa modifikasi dari metode ini, yaitu (Caraan, dkk., 1994 dalam Muttar, 2006):

a. Cara difusi dengan silinder pipih

Cara ini didasarkan atas perbandingan antara luas daerah hambatan yang dibentuk larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroba dengan daerah hambatan yang terjadi pada larutan pembanding.

b. Cara difusi dengan mangkok pipih

Cara ini sama dengan di atas, perbedaannya adalah disini menggunakan alat berupa "cup plate" yaitu untuk membuat lubang langsung pada medium.

c. Cara difusi dengan kertas saring

Cara ini menggunakan kertas yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu, biasanya berbentuk bulat dengan garis tengah 0,1 – 0,7 cm yang nantinya akan dicelupkan pada larutan contoh pembanding, kemudian kertas saring tersebut dikeringkan dan diletakkan di atas medium agar yang telah ditanami mikroba uji. Pengamatan dilakukan dengan melihat daerah hambatan yang terbentuk.

d. Cara difusi Kirby – Bauer

Cara ini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring dan cawan petri yang digunakan berukuran 150 x 15 mm, sehingga langsung dapat diuji dengan berbagai konsentrasi larutan contoh.

e. Cara difusi agar berlapis

Cara ini merupakan modifikasi cara Kirby – Bauer. Perbedaannya pada cara ini menggunakan dua lapisan agar. Lapisan pertama disebut “*based layer*” tidak mengandung mikroba sedangkan lapisan kedua disebut “*seed layer*” mengandung mikroba.

II.6 Metode Pemisahan

II.6.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Prinsip kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu analisis yang digunakan untuk memisahkan senyawa secara cepat berdasarkan prinsip partisi dan absorpsi. Adsorben berupa serbuk halus yang dilapiskan secara merata dan tipis (0,1 – 2 mm) di atas penyangga berupa pelat kaca, logam atau lapisan yang cocok (fase diam). Campuran berupa larutan yang akan dipisahkan ditotolkan (5 – 100 µg) berupa bercak atau pita dengan menggunakan pipa kaca kapiler yang halus. Setelah pelat atau lapisan ditempatkan dalam bejana tertutup rapat (*chamber*) yang berisi eluen (fase gerak) yang cocok, pemisahan terjadi selama proses elusi terjadi. Proses pemisahan akan lebih baik bila ruangan *chamber* jenuh dengan uap air eluen (Razak dan Ahmad, 2004)

Kromatografi memiliki fase diam (dapat berupa padatan, atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas). Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda. Pelaksanaan kromatografi lapis tipis menggunakan sebuah lapis tipis silika atau

alumina yang seragam pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras gel silika (atau alumina) merupakan fase diam. Fase diam untuk kromatografi lapis tipis seringkali juga mengandung substansi yang mana dapat berpendarflour dalam sinar ultra violet (Rios *et al*,1988).

Nilai R_f (Rate of flow) merupakan parameter karakteristik KLT. Nilai ini merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram. Nilai R_f didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh pelarut pengembang atau pengelusi. berlangsung sebagai berikut (Gritter, 1991).

$$R_f = \frac{\text{Jarak Yang Ditempuh Oleh Komponen}}{\text{Jarak Yang Ditempuh Oleh Pelarut}}$$

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai R_f , yaitu (Ditjen, 1989):

1. **Pelarut**, disebabkan pentingnya koefisien partisi, maka perubahan-perubahan yang sangat kecil dalam komposisi pelarut dapat menyebabkan perubahan-perubahan harga R_f .
2. **Suhu**, perubahan dalam suhu merubah koefisien partisi dan juga kecepatan aliran.
3. **Ukuran dari bejana**, volume dari bejana mempengaruhi homogenitas dari atmosfer jadi mempengaruhi kecepatan penguapan dari komponen-komponen pelarut dari kertas. Jika bejana besar digunakan, ada tendensi perambatan lebih lama, seperti perubahan komposisi pelarut sepanjang kertas, maka koefisien

partisi akan berubah juga. Dua faktor yaitu penguapan dan komposisi mempengaruhi harga Rf.

4. **Kertas**, pengaruh utama kertas pada harga Rf timbul dari perubahan ion dan serapan yang berbeda untuk macam-macam kertas. Kertas mempengaruhi kecepatan aliran juga mempengaruhi kesetimbangan partisi.
5. **Sifat dari campuran**, sifat senyawa dan pelarut akan mempengaruhi kelarutan terhadap fase diam atau gerak dan dapat mengubah nilai Rf.

II.6.2 Analisis KLT-Bioautografi

Bioautografi adalah metode pendeteksian untuk penemuan senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan melokalisir aktivitas antimikrobial pada kromatogram. Metode ini didasarkan pada efek biologi (antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dll.) dari substansi yang diteliti. Ciri khas dari prosedur KLT-Bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antimikroba dipindahkan dari lapisan kromatografi ke dalam medium agar yang telah diinokulasi.

Zona inhibisi ditampakan oleh aktivitas dehidrogenase dari pereaksi pendeteksi. KLT-Bioautografi dipertimbangkan paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba sebab dapat melokalisir bioaktivitas meskipun dalam senyawa kompleks dan komponen yang aktif dapat langsung diisolasi (Razak dan Ahmad, 2004)

Menurut Rios et al (1988), KLT-Bioautografi dapat dibagi dalam tiga kelompok, yaitu :

1. Bioautografi langsung

Prinsip kerja metode ini yaitu suspensi mikroba dalam medium cair disemprotkan pada permukaan kromatogram yang telah dihilangkan sisa cairan pengelusi yang menempel pada lempeng kemudian diinkubasi pada suhu yang sesuai.

2. Bioautografi Kontak

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan KLT. Lempeng kromatografi ditempatkan di atas permukaan medium nutrient agar (NA) yang telah diinokulasikan dengan mikroba yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisis dan dibiarkan kontak selama 15 - 30 menit kemudian lempeng kromatografi kemudian dipindahkan dari permukaan medium. Senyawa antimikroba dari kromatogram yang telah berdifusi ke dalam medium agar akan menghambat pertumbuhan mikroba setelah diinkubasi pada waktu dan temperatur yang sesuai sehingga spot noda yang menghambat pertumbuhan mikroba uji tampak sebagai zona bening pada permukaan. Zona ini dapat tampak lebih jelas dengan menggunakan indikator aktivitas dehidrogenase.

3. Bioautografi pencelupan

Pada metode ini lempeng kromatografi yang telah dielusi diletakkan dalam cawan petri sehingga permukaannya tertutupi oleh medium agar yang berfungsi sebagai *base layer*. Setelah medium memadat, selanjutnya dituang medium agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji yang berfungsi sebagai *seed layer* kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai.

II.7 Identifikasi Hasil KLT dengan Pereaksi Kimia

Metode identifikasi yang digunakan dalam KLT ditentukan oleh sifat senyawa dalam campuran. Dua metode yang paling sering digunakan ialah pemeriksaan di bawah lampu UV dan penggunaan semprotan pereaksi untuk menghasilkan fluoresensi atau derivat berwarna. Penggunaan pereaksi semprot kromogenik atau fluorogenik merupakan uji kimiawi basah yang klasik dan telah dimodifikasi untuk menghasilkan warna dari senyawa yang tidak berwarna (Stahl, 1985 dalam Asri Saleh, 2008).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah salinometer, piring sachi, termometer, cawan petri (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), erlenmeyer 250 ml (Pyrex), gelas piala (Pyrex), labu ukur 50 ml (witeg), inkubator (Mettler), neraca analitik (Sartorius), oven (Mettler), otoklaf (webeco), jangka sorong (Vernier), pisau, blender, coolbox, ose bulat, ose lurus, spoit, lemari pendingin, laminary air flow, bunsen, pinset, rak tabung, corong, rotavapor, mikropipet, batang pengaduk, botol pengenceran, sendok tanduk, dan spektrofotometer (Spektronik 340)

III.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Caulerpa sertularioides*, biakan murni bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, metanol, Heksan, Medium HHA (Mueller-Hilton-Agar), etil asetat, NaCl fisiologis 0,9%, alkohol 70 %, Lieberman-Burchard, Vanilin Asam-Sulfat, aquades, kertas saring Whatman 1, lempeng KLT, kapas dan aluminium foil.

III.3 Metode Kerja

III.3.1 Sterilisasi Alat dan Medium

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan menggunakan deterjen lalu dibilas 3 kali sampai bersih dan dikeringkan. Alat-alat gelas yang tahan panas tinggi seperti cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas piala, labu ukur dan botol pengenceran dibungkus dengan kertas dan mulut tabung ditutup dengan kapas dan aluminium foil lalu disterilkan dengan oven pada suhu 180 °C selama 2 jam. Sedangkan alat yang terbuat dari logam, seperti ose disterilkan dengan pencucian alkohol dan dipijarkan langsung di atas api Bunsen. Sterilisasi medium dan alat-alat yang tidak tahan panas seperti spuit dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

III.3.2 Pengambilan dan Ekstraksi Sampel

- Pengambilan Sampel

Sampel *Caulerpa sertularioides* diambil dari sekitar perairan Pulau Lae-lae, Makassar, Sulawesi Selatan. Sampel yang diperoleh lalu diidentifikasi di Laboratorium Lingkungan dan Kelautan, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

-Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dalam dua tahapan, yaitu:

a. Ekstraksi menggunakan pelarut polar-metanol

Caulerpa sertularioides dicuci bersih, dipotong-potong kecil lalu ditimbang sebanyak 100 gram dan dihaluskan dengan blender. Kemudian

ditambahkan metanol sebanyak 200 ml lalu dishaker selama 2 X 24 jam. Setelah dishaker lalu disaring, ampas yang diperoleh diekstraksi lagi 2 x 200 ml metanol. Hasil ekstraksi yang diperoleh dikisatkan dengan rotavapor untuk menghilangkan cairan penyaringnya hingga menjadi ekstrak kental.

b. Ekstraksi menggunakan pelarut non-polar n-Heksan

Ampas yang diperoleh dari ekstraksi dengan menggunakan penyari metanol diekstrak dengan penyari Heksan sebanyak 200 ml lalu dishaker 2 x 24 jam, hasil ekstrak yang diperoleh kemudian digabungkan lalu dikisatkan dengan rotavapor untuk menghilangkan cairan penyaringnya hingga diperoleh ekstrak kental.

III.3.3 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak metanol dan heksan dari *Caulerpa sertularioides* masing - masing sebanyak 1 gram didispersikan kedalam 9 ml DMSO steril hingga diperoleh konsentrasi 10 %. Sebanyak 1 ml konsentrasi 10 % ditambahkan 9 ml aquades steril hingga diperoleh konsentrasi 1 %. Sebanyak 1 ml konsentrasi 1 % ditambahkan 9 ml aquades steril hingga diperoleh konsentrasi 0,1 %.

III.3.4 Pembuatan Medium

- Pembuatan medium NA (Nutrient Agar)

Medium yang digunakan adalah medium NA (Nutrien Agar) sebanyak

2,3 g. Kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquades. Medium dipanaskan hingga homogen. Setelah larut, medium tersebut diatur pH-nya hingga 7,0 lalu ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian disterilkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

- **Pembuatan Medium HHA (Mueller-Hilton-Agar)**

Medium MHB sebanyak 8,4 gram ditambahkan agar sebanyak 6 gram kemudian dilarutkan ke dalam Erlenmeyer dengan aquades 400 ml. kemudian, dipanaskan di atas penangas sambil diaduk sampai larut, medium diatur pH-nya hingga 7,0 lalu ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.3.5 Penyiapan Bakteri Uji

- **Peremajaan**

Stapylococcus aureus dan *Salmonella typhi* yang berasal dari biakan murni, masing-masing diambil satu ose lalu diinokulasikan dengan cara digores pada medium Nutrient Agar (NA) miring dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 - 48 jam.

- **Pembuatan Suspensi**

Stapylococcus aureus dan *Salmonella typhi* yang telah diremajakan selama ± 24 - 48 jam, masing-masing diambil satu ose lalu disuspensikan ke dalam larutan NaCl fisiologis 0,9 % steril kemudian dihomogenkan. Suspensi diukur transmitannya pada 25 % dengan menggunakan spektrofotometer, sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9 % steril dengan panjang gelombang 580 nm dengan

menggunakan kuvet berdiameter 13 mm

III.3.6 Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dilakukan dengan metode difusi dengan pengukuran besar zona hambatan disekitar kertas cakram. Suspensi bakteri masing-masing *Stapylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* yang telah disiapkan dituang ke dalam 2 cawan petri dan dihomogenasikan dengan medium HHA (Mueller-Hilton-Agar). Kertas cakram direndam selama 5 menit ke dalam larutan konsentrasi ekstrak kemudian diletakkan pada permukaan medium. Setelah itu diinkubasi 1 X 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur besarnya zona hambatan disekitar kertas cakram.

III.3.7 Pemisahan Senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis (Razak dan Ahmad, 2004).

Lempeng KLT yang akan digunakan diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit, kemudian ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT berukuran 8 x 2 cm menggunakan pipa kapiler. Keduanya ditotolkan 0,5 cm dari dasar lempeng. Kemudian lempeng KLT dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang sudah jenuh dengan cairan pengembang. Dibiarkan mengembang sampai batas 0,5 cm – 1 cm dari tepi atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan hingga cairan pengembangnya menguap selanjutnya kromatogram yang dihasilkan digunakan untuk uji KLT-Bioautografi dan diamati noda yang dihasilkan di bawah lampu

UV pada panjang gelombang 254 nm dan panjang gelombang 366 nm.

III.3.8 Pengujian KLT-Bioautografi (Razak dan Ahmad, 2004).

Ke dalam cawan petri steril dituang medium MHA secara aseptis sebanyak 15 mL dan dibiarkan membeku sebagai lapisan dasar (*base layer*). Setelah itu media MHA sebanyak 10 mL yang telah dicampurkan dengan 1 mL suspensi bakteri uji yang telah disiapkan dituangkan di atas lapisan dasar sebagai lapisan *seed layer*. Setelah media agak memadat, lempeng KLT yang telah dikembangkan diletakkan di atas permukaan media agar selama 30 menit, kemudian lempeng KLT diangkat dan media agar diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam sampai dengan 3 x 24 jam dan diamati daerah hambatan yang terbentuk.

III.3.9 Uji Identifikasi Kromatogram Hasil KLT Menggunakan Beberapa Pereaksi Kimia (Razak dan Ahmad, 2004).

Ekstrak metanol dan heksan dari *Caulerpa sertularioides* ditotolkan pada lempeng KLT berukuran 8 x 2 cm menggunakan pipa kapiler dan dibiarkan beberapa saat hingga kering dan dimasukkan dalam bejana kromatografi yang sudah jenuh dengan cairan pengembang. Dibiarkan mengembang sampai batas 0,5 cm – 1 cm dari tepi atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari bejana dan diangin-anginkan hingga cairan pengembangnya menguap.

Noda diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm, yang mempunyai nilai Rf sama dengan noda yang memberikan zona bening pada analisis KLT-bioautografi dianalisis dengan menyemprotkan beberapa pereaksi

kimia pada kromatogram. Pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi Lieberman-Burchard dan Vanilin Asam Sulfat. Warna noda yang terbentuk menunjukkan golongan senyawa dari antibakteri. Untuk pereaksi Lieberman Burchard, jika terdapat noda berwarna merah maka positif mengandung senyawa antibakteri golongan Terpenoid. Untuk pereaksi Vanilin Asam-Sulfat, jika terdapat noda berwarna ungu maka positif mengandung senyawa Steroid.

III.3.10 Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan mengamati spot noda yang dihasilkan pada lempeng KLT dan daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji pada cawan petri pada inkubasi selama 2 x 24 jam sampai dengan 3 x 24 jam.

III.4 Analisis Data

Hasil pengukuran daerah hambatan (zona bening) dan pengamatan spot noda yang dihasilkan pada lempeng KLT serta daerah hambat yang terbentuk pada inkubasi 48 dan 72 jam dianalisis secara deskriptif yang ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

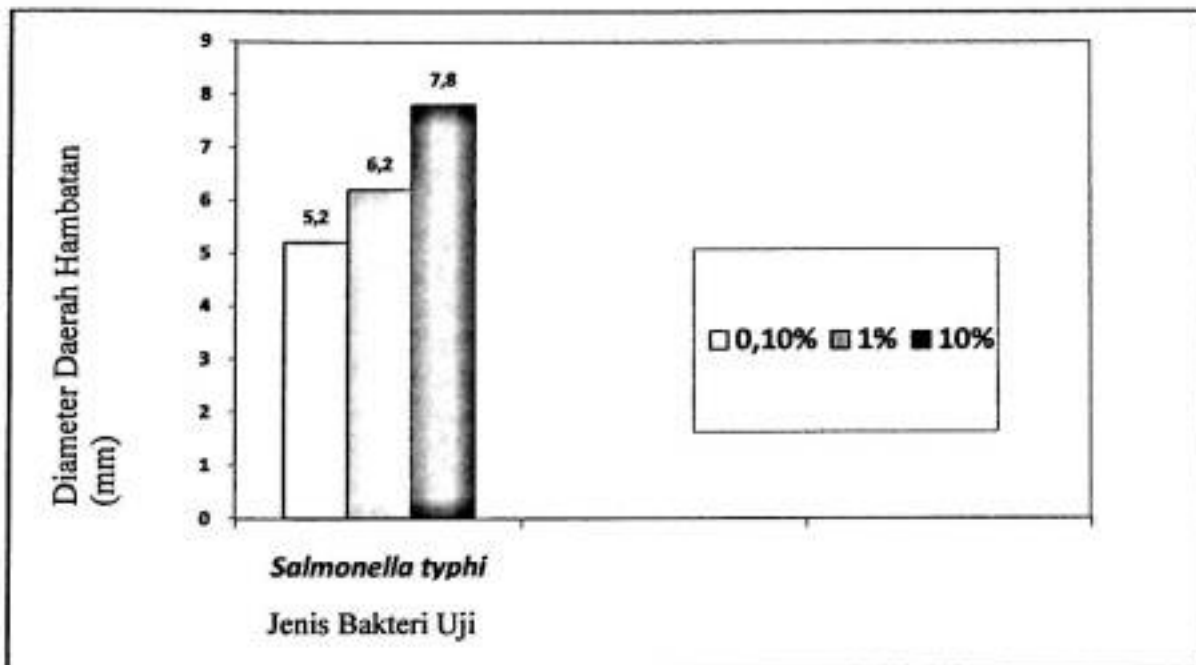
IV.1 Penentuan Daerah Hambatan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian bioaktivitas dari ekstrak *Caulerpa sertularioides* sebagai senyawa antibakteri. Pengujian daya hambat dilakukan dengan teknik difusi. Pemisahan senyawa dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lempeng Tipis) kemudian penentuan noda aktif dilakukan dengan metode KLT-Bioautografi kontak. Selanjutnya senyawa yang didapatkan diidentifikasi dengan menggunakan beberapa pereaksi kimia untuk menentukan golongan senyawanya.

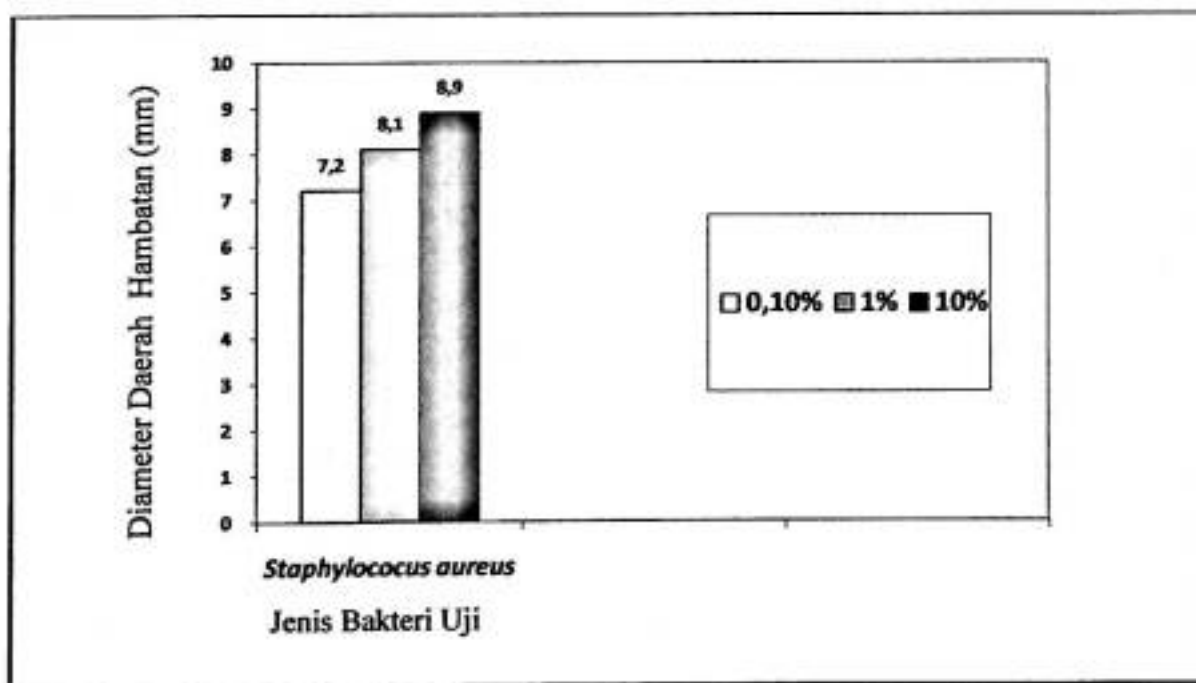
Hasil pengukuran daerah hambatan ekstrak *Caulerpa sertularioides* pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* diperlihatkan pada tabel dan diagram berikut :

Tabel 2 : Data pengukuran diameter hambatan ekstrak metanol dan heksan *Caulerpa sertularioides* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*

| Jenis Bakteri | Diameter Zona Hambatan (mm) | | | | | | Kontrol Negatif |
|------------------------------|-----------------------------|-----|-----|----------------|-----|-----|-----------------|
| | Ekstrak Metanol | | | Ekstrak heksan | | | |
| | 0,1% | 1% | 10% | 0,1% | 1% | 10% | |
| <i>Salmonella typhi</i> | 5,2 | 6,2 | 7,8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0 | 0 | 0 | 7,2 | 8,1 | 8,9 | 0 |



Gambar 7. Diagram hasil pengukuran diameter daerah hambatan ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*



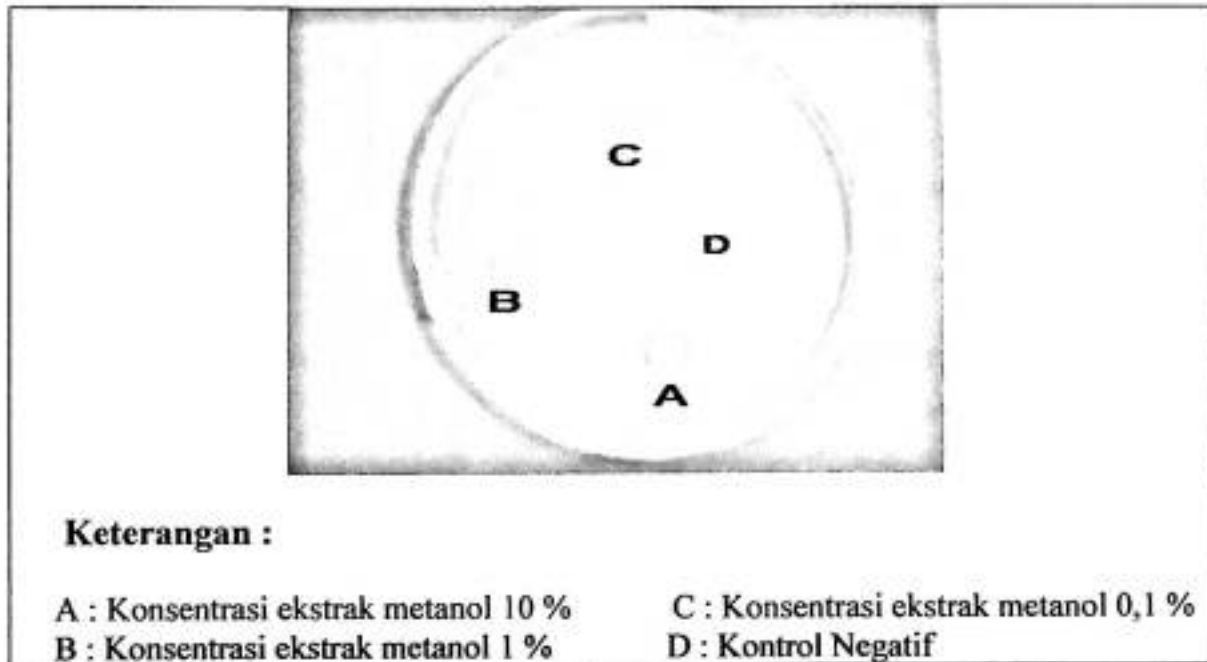
Gambar 8. Diagram hasil pengukuran diameter daerah hambatan ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Pada tabel 2 terlihat bahwa ekstrak metanol dari *Caulerpa sertularioides* hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* (Gram -) dan ekstrak heksan dari *Caulerpa sertularioides* hanya dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Gram +). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *Caulerpa sertularioides* termasuk antimikroba spektrum sempit (Ardiansyah, 2007).

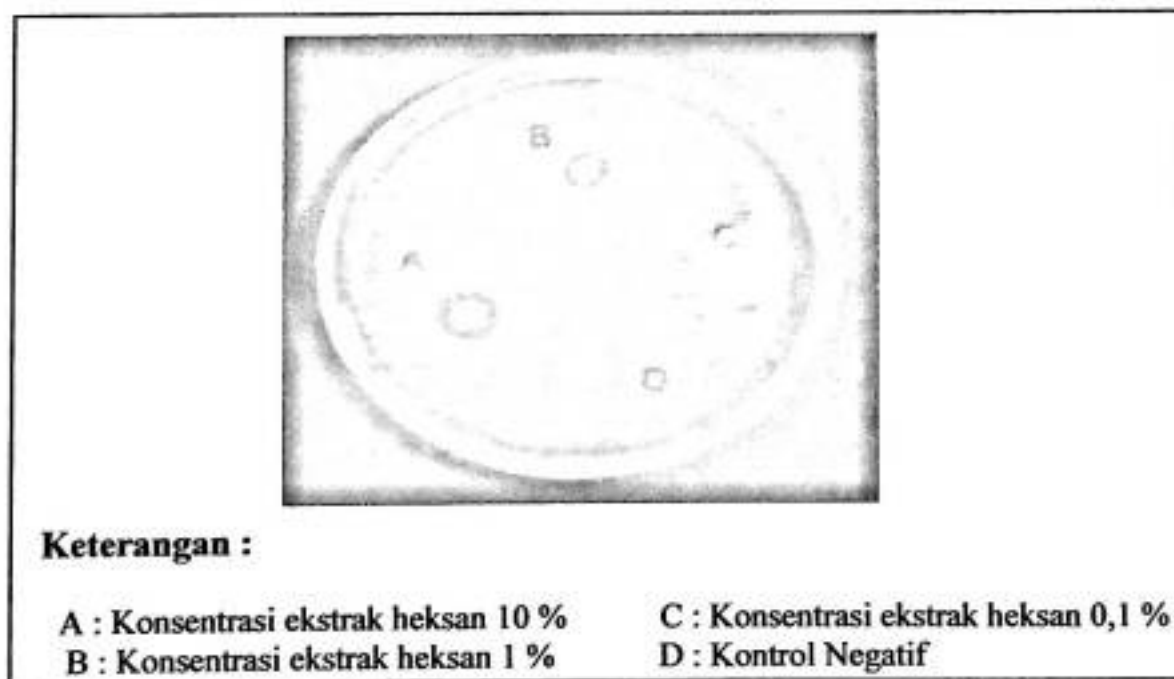
Hasil pengukuran diameter daerah hambatan dari ekstrak metanol dan ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* dengan menggunakan konsentrasi 0,1%, 1% dan 10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan masa inkubasi 1 x 24 jam memberikan aktivitas antibakteri berupa terbentuknya zona bening pada kedua bakteri uji. Terbentuknya zona bening pada medium memperlihatkan bahwa ekstrak *Caulerpa sertularioides* mengandung senyawa antibakteri yang berdifusi disekitar kertas cakram sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang ada di sekitar cakram. Hasil penelitian Tajbakhsh (2008) menunjukkan bahwa *Caulerpa sertularioides* dari Teluk Persia mengandung senyawa antibakteri yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan tabel 2 dan diagram diatas terlihat meningkatnya daerah hambatan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Menurut Cappucino dan Sherman (1978), peningkatan konsentrasi umumnya diikuti dengan peningkatan kandungan senyawa antibakteri sehingga diameter daerah hambatan juga meningkat, dimana konsentrasi tertinggi akan lebih banyak menyebabkan kematian mikroorganisme.

Daerah hambatan ekstrak *Caulerpa sertularioides* terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* diperlihatkan pada gambar berikut :



Gambar 9. Daerah hambatan ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* terhadap bakteri *Salmonella typhi*



Gambar 10. Daerah hambatan ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Diameter daerah hambatan ekstrak *Caulerpa sertularioides* yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* memperlihatkan hasil yang berbeda. Pengaruh ekstrak lebih besar pada bakteri *Staphylococcus aureus* (gram positif) dibandingkan dengan bakteri *Salmonella typhi* (gram negatif). Hal ini terjadi karena adanya perbedaan sifat fisiologis dan kimia dari kedua bakteri uji tersebut. Dinding sel bakteri gram positif tersusun atas lapisan peptidoglikan yang relatif tebal (15 - 80 nm), berlapis tunggal tetapi hanya mengandung 1-4 % lipid sehingga senyawa antibakteri mudah menembus dinding selnya. Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan relatif tipis (10 - 15 nm), berlapis tiga, tetapi dikelilingi lapisan lipoprotein, 60 - 80 % lipopolisakarida, fosfolipid dan beberapa protein sehingga senyawa antibakteri sulit untuk menembus dinding selnya. Setiap bakteri pada hakekatnya mempunyai kemampuan untuk membentuk resistensi dalam dirinya yang merupakan salah satu mekanisme alamiah untuk mempertahankan hidupnya (Pelczar, 1998).

Zona hambatan yang terbentuk setelah masa inkubasi 1 x 24 jam, tidak ditumbuhi bakteri. Tetapi setelah inkubasi dilanjutkan 3 x 24 jam, zona hambatan telah ditumbuhi bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak *Caulerpa sertularioides* bersifat bakteriosida.

IV.2 Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Senyawa yang telah terpisah selanjutnya akan nampak sebagai

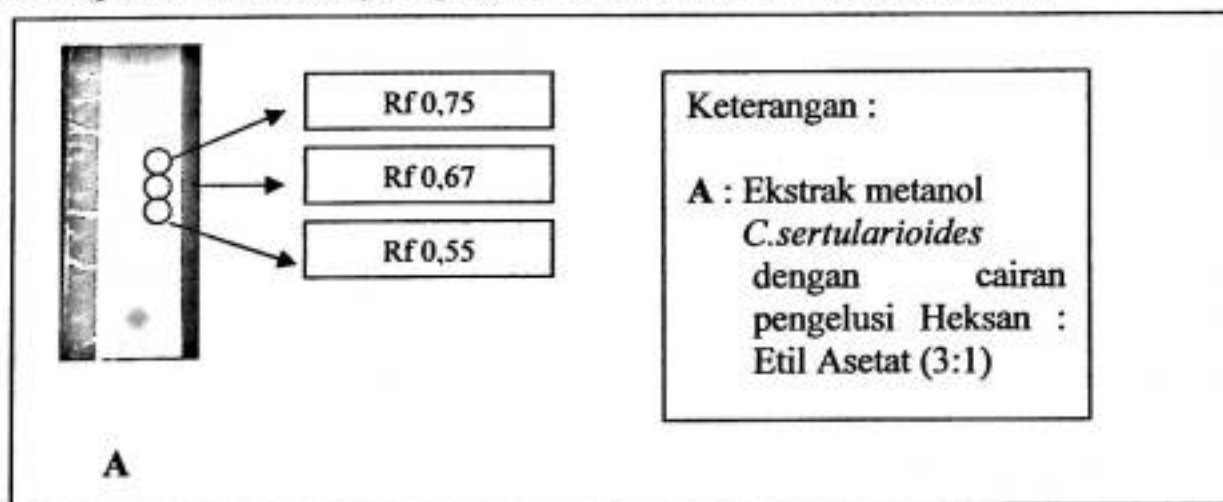
noda pada permukaan KLT dan masing-masing noda memiliki nilai Rf (Retardation factor) yang berbeda pula. Perbedaan nilai Rf ini menunjukkan letak masing-masing noda (senyawa) dalam kromatogram.

Pemisahan komponen kimia ekstrak *Caulerpa sertularioides* secara kromatografi lapis tipis (KLT) diperlihatkan pada tabel 3 berikut :

Tabel 3 :Data Pemisahan Secara KLT Ekstrak *Caulerpa sertularioides* Menggunakan Eluen Heksan : Etil Asetat (3:1) dengan Penyari Metanol dan Eluen Heksan : Etil Asetat (4:1) dengan Penyari Heksan.

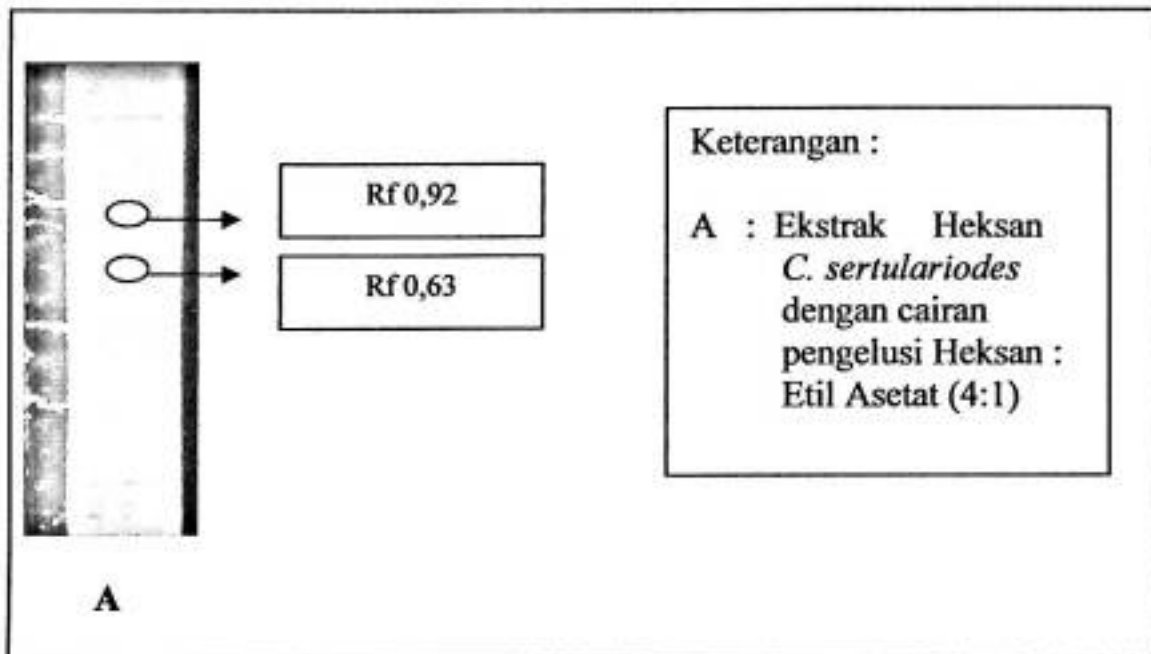
| Sampel | Eluen Heksan:Etil Asetat | | | | |
|--------------------------------|--------------------------|----------|----------------------|----------|------|
| | Ekstrak Metanol (3:1) | | Ekstrak Heksan (4:1) | | |
| <i>Caulerpa sertularioides</i> | Jumlah Noda | Nilai Rf | Jumlah Noda | Nilai Rf | |
| | 3 | | 0,75 | 2 | 0,92 |
| | | | 0,67 | | 0,63 |
| | | 0,55 | | | |

Gambar hasil pemisahan senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis dengan menggunakan cairan pengelusi Heksan : Etil Asetat (3 : 1) untuk ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* pada penampakan noda sinar UV 366 nm yaitu :



Gambar 11 : KLT Ekstrak Metanol *Caulerpa sertularioides* dengan Penampakan noda Sinar UV 366 nm.

Gambar hasil pemisahan senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis dengan menggunakan cairan pengelusi Heksan : Etil Asetat (4 : 1) untuk ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* pada penampakan noda sinar UV 366 nm yaitu :



Gambar 12 : KLT Ekstrak Heksan *Caulerpa sertularioides* dengan Penampakan noda Sinar UV 366 nm.

Berdasarkan hasil KLT yang diperoleh pada tabel 3 diketahui bahwa pada ekstrak metanol terdapat 3 noda dengan nilai Rf 0,75; 0,67; 0,55 sedangkan pada ekstrak heksan terdapat 2 noda dengan nilai Rf 0,92 dan 0,63 yang diperlihatkan dengan penampakan noda sinar UV 366 nm. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat masing-masing 3 komponen senyawa yang larut pada ekstrak metanol dan 2 komponen senyawa yang larut pada ekstrak heksan. Nilai Rf ini menunjukkan letak masing-masing senyawa dalam kromatogram. Terbentuknya noda dengan nilai Rf yang berbeda-beda pada pemisahan senyawa metode KLT disebabkan oleh daya elusi dari eluen yang bervariasi sesuai dengan kepolaran eluen.

IV.3 Pengujian Secara KLT-Bioautografi Kontak

Hasil yang diperoleh dari pemisahan senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) kemudian dilanjutkan dengan uji metode KLT-Bioautografi untuk melihat noda-noda aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

Hasil yang diperoleh pada KLT-Bioautografi kontak dari ekstrak metanol dan heksan *Caulerpa sertularioides* menggunakan eluen heksan : etil asetat (3:1) untuk dan eluen heksan : etil asetat (4:1) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* diperlihatkan pada tabel 4.

Tabel 4 : Data Pemisahan Secara Bioautografi Ekstrak *Caulerpa sertularioides* Menggunakan Eluen Heksan : Etil Asetat (3:1) untuk Penyari Metanol dan Eluen Heksan : Etil Asetat (4:1) untuk Penyari Heksan

| KET | Noda Ke | Nilai Rf | Bakteri Uji | |
|-----------------|---------|----------|-------------------------|------------------------------|
| | | | <i>Salmonella typhi</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Ekstrak metanol | 1 | 0,75 | - | - |
| | 2 | 0,67 | + | - |
| | 3 | 0,55 | - | - |
| Ekstak Heksan | 1 | 0,92 | - | - |
| | 2 | 0,63 | - | + |

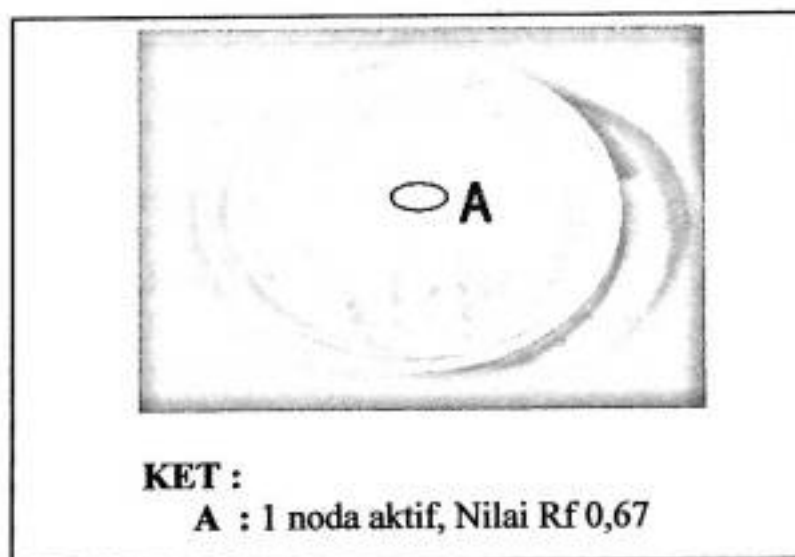
Ket :

- : negatif/ tidak menghambat pertumbuhan bakteri
- + : positif / menghambat pertumbuhan bakteri (aktif)

Tabel 4 menunjukkan bioaktivitas dari ekstrak *Caulerpa sertularioides* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pada ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* menunjukkan noda aktif dengan nilai Rf 0,67 dapat menghambat

sertularioides menunjukkan noda aktif dengan nilai Rf 0,67 dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Hal ini menunjukkan bahwa komponen senyawa ini berspektrum sempit karena hanya dapat menghambat bakteri gram (-). Pada ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* menunjukkan noda aktif dengan nilai Rf 0,63 dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hal ini juga menunjukkan bahwa komponen senyawa ini berspektrum sempit karena hanya dapat menghambat bakteri gram (+).

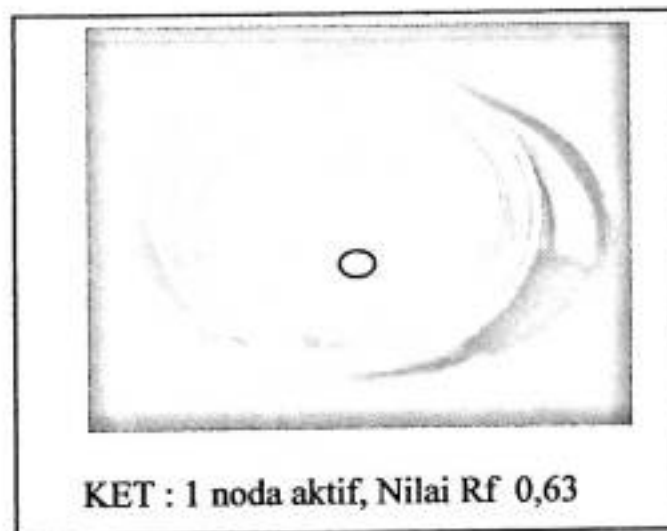
Hasil yang diperoleh pada KLT-Bioautografi dari ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* terhadap *Salmonella typhi* dengan menggunakan eluen Heksan : Etil asetat (3 : 1) diperlihatkan pada gambar berikut:



Gambar 13 : Bioautografi Ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* Terhadap *Salmonella typhi* dengan Menggunakan Eluen Heksan : Etil Asetat (3:1)

Hasil yang diperoleh pada KLT-Bioautografi dari ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan eluen

Heksan : Etil asetat (4 : 1) diperlihatkan pada gambar:



Gambar 14: Bioautografi Ekstrak Heksan *Caulerpa sertularioides* dengan Terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Menggunakan Eluen Heksan : Etil Asetat (4:1)

Senyawa antibakteri yang diuji menggunakan metode KLT-Bioautografi dari ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* dengan menggunakan eluen Heksan : Etil asetat (3:1) pada penampak noda sinar UV 366 nm menunjukkan dari 3 noda yang terbentuk terdapat 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,67 yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (*Salmonella typhi*).

Senyawa antibakteri yang diuji menggunakan metode KLT-Bioautografi dari ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* dengan menggunakan eluen Heksan : Etil asetat (4 : 1) pada penampak noda sinar UV panjang gelombang 366 nm menunjukkan dari 3 noda yang terbentuk terdapat 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,63 dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Noda-noda aktif pada kromatogram tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* disebabkan

pemakaian eluen sebagai campuran pelarut organik dengan perbandingan yang berbeda diduga mempengaruhi pemisahan molekul-molekul yang terkandung pada *Caulerpa sertularioides* (Rahalison, 1991).

IV.4 Identifikasi Menggunakan Pereaksi Kimia

Noda-noda yang aktif tersebut selanjutnya disemprot dengan menggunakan beberapa pereaksi kimia untuk menentukan golongan senyawa. Hasil identifikasi senyawa kimia dilihat pada tabel 5 berikut :

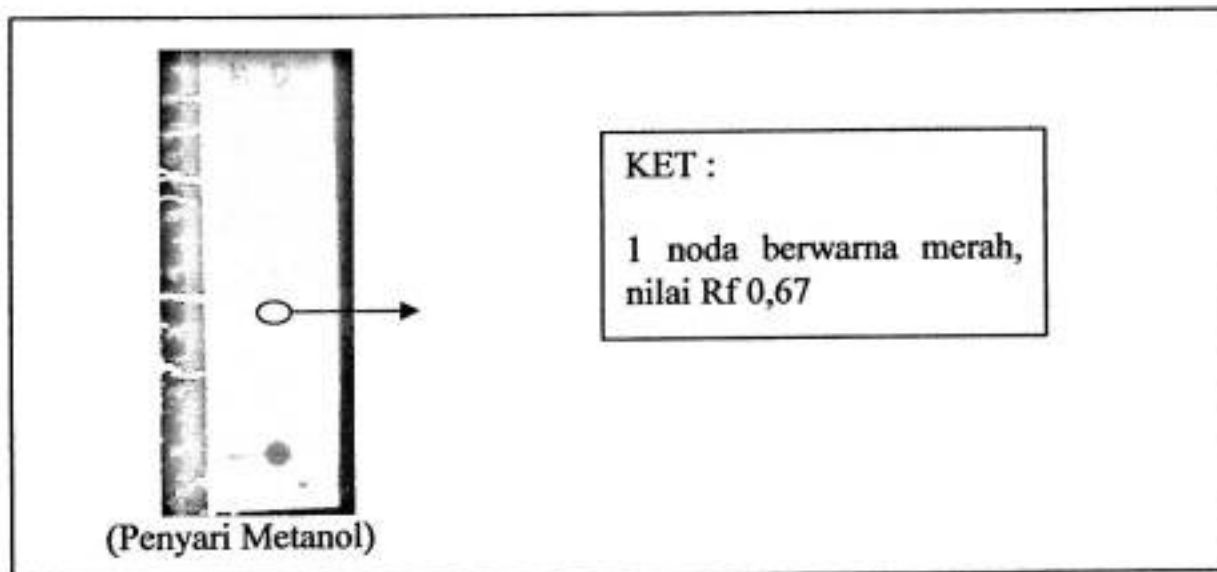
Tabel 5 : Hasil yang diperoleh dari identifikasi dengan pereaksi-pereaksi kimia pada Lempeng KLT *Caulerpa sertularioides*

| No | Nama Pereaksi | Warna | Golongan | Metanol (nilai Rf) | Heksan (nilai Rf) |
|----|----------------------------|-------|-----------|--------------------|-------------------|
| | | | | 0,67 | 0,63 |
| 1 | Liberman - Burchard | Merah | Terpenoid | + | - |
| 2 | Vanilin- Asam Sulfat | Ungu | Steroid | - | + |

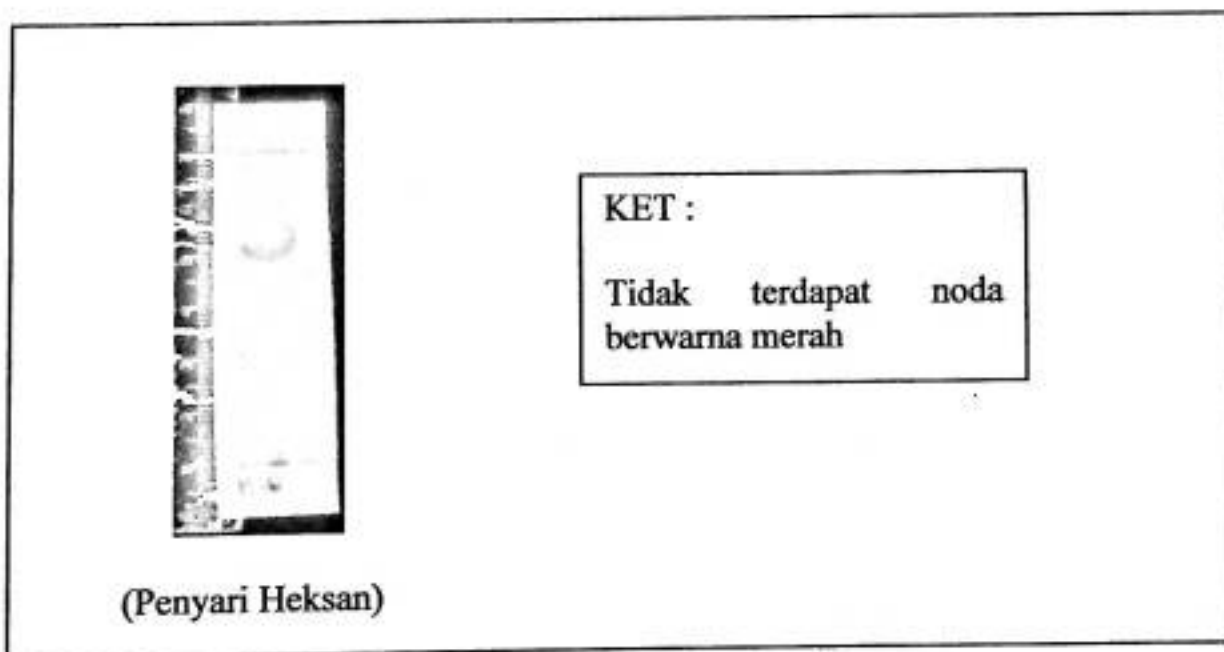
Keterangan :

- + : Positif (termasuk golongan senyawa Terpenoid / Steroid)
- : Negatif (tidak termasuk golongan senyawa Terpenoid / Steroid)

Hasil yang diperoleh pada identifikasi pereaksi dari ekstrak *Caulerpa sertularioides* dengan penyari metanol dan heksan terhadap pereaksi Libermann-Buchard diperlihatkan pada gambar berikut :

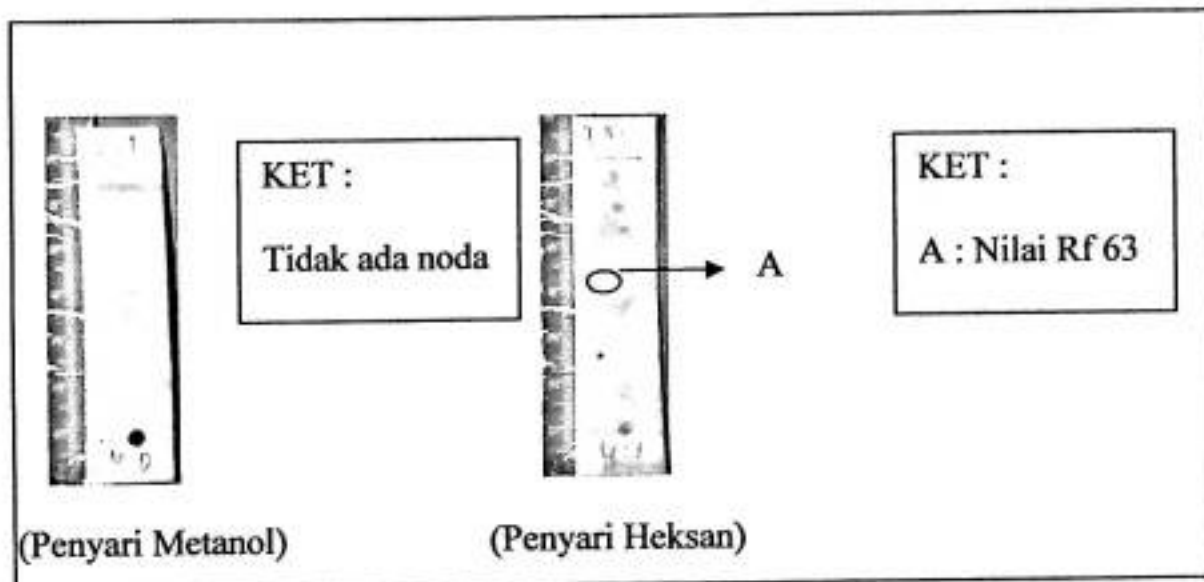


Gambar 15. Hasil identifikasi dari ekstrak metanol *Caulerpa sertularioides* terhadap pereaksi Liberman-Burchard



Gambar 16. Hasil identifikasi dari ekstrak heksan *Caulerpa sertularioides* terhadap pereaksi Liberman-Burchard

Hasil yang diperoleh pada identifikasi pereaksi dari ekstrak metanol dan heksan *Caulerpa sertularioides* terhadap pereaksi Vanilin Asam Sulfat diperlihatkan pada gambar berikut :



Gambar 17. Hasil identifikasi dari ekstrak *Caulerpa sertularioides* dengan penyari metanol dan heksan terhadap pereaksi Vanilin - Asam Sulfat

Hasil identifikasi dengan pereaksi Libermann- Buchard pada senyawa aktif dengan nilai Rf 0,67 menunjukkan noda berwarna merah, hal ini menandakan bahwa senyawa ini termasuk golongan Terpenoid.

Hasil identifikasi dengan pereaksi Vanilin-Asam pada senyawa aktif dengan nilai Rf 0,63 menunjukkan noda berwarna ungu, hal ini menandakan bahwa senyawa ini termasuk golongan Steroid.

Terbentuknya warna pada noda - noda tersebut di atas disebabkan oleh adanya reaksi antara senyawa antimikroba dengan pereaksi kimia yang digunakan. Dari hasil identifikasi tersebut diketahui bahwa ekstrak metanol *C. sertularioides* (Rf 0,67) mengandung senyawa Terpenoid dan ekstrak heksan *C. sertularioides* (Rf 0,67) mengandung senyawa Steroid (Gritter, 1991).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak *Caulerpa sertularioides* bersifat antimikroba karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (*Salmonella typhi*) dan bersifat bakteriosida.
2. Hasil analisis KLT-Bioautografi dari ekstrak *Caulerpa sertularioides* terdapat 2 senyawa aktif yaitu senyawa dengan nilai Rf 0,63 (ekstrak heksan) yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan dengan nilai Rf 0,67 (ekstrak metanol) yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*.
3. Pada identifikasi dengan menggunakan pereaksi kimia, senyawa aktif dengan nilai Rf 0,63 (ekstrak heksan) dan 0,67 (ekstrak metanol) masing-masing teridentifikasi golongan senyawa Steroid dan Terpenoid.

V.2 Saran

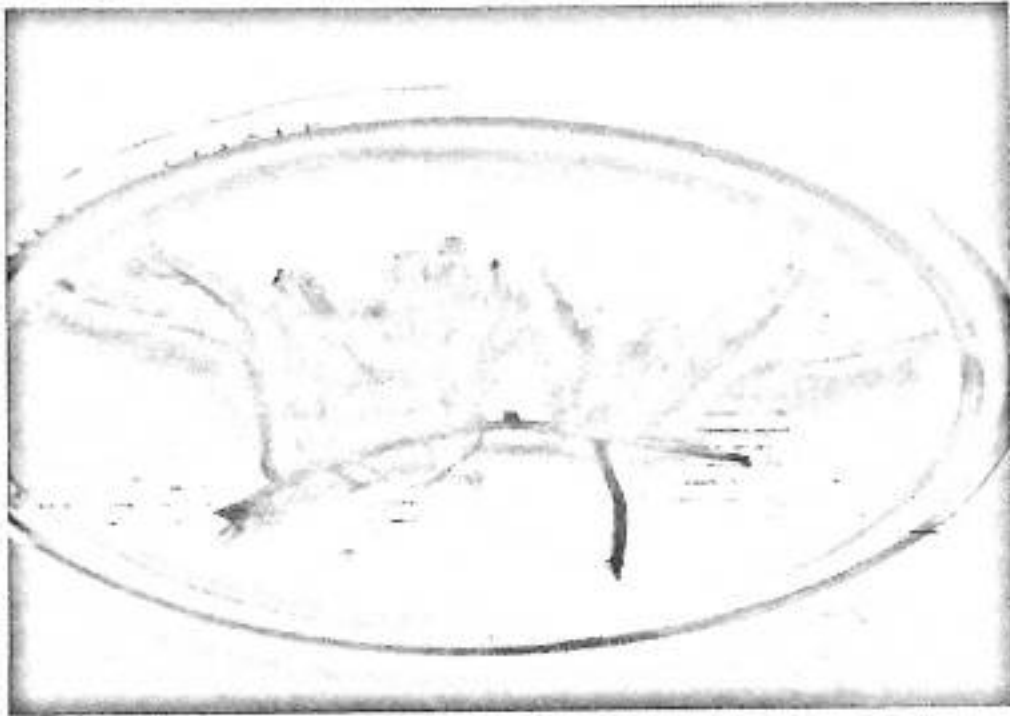
Hasil penelitian ini menunjukkan potensi ekstrak *Caulerpa sertularioides* sebagai sumber senyawa alami yang bersifat antibakteri sehingga perlu dikembangkan agar dapat menjadi bahan antibakteri baru dimasa yang akan datang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam, 1996., **Telaah Kandungan Kimia *Caulerpa***:
<http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jbptitbpp-gdl-s2-1999-khairulana-1850>
- Anonim, 2000, **Pengembangan Potensi Rumput Laut di Kabupaten Jeneponto Sulawesi Selatan** (<http://en.wikipedia.org/wiki/Plant>)
- Ardiansyah, 2007, **Antimikroba**, ([http://www.beritaiptek.com/zberita-berita-Antimikroba\(Bagian-Kedua\).shtml](http://www.beritaiptek.com/zberita-berita-Antimikroba(Bagian-Kedua).shtml)) diakses pada 12 Jan 2008.
- Atmadja. W.S., 1996, **Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia**, Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta.
- Brooks, G.F., Janet S.B., Stephen A.M., 2005. **Mikrobiologi Kedokteran**. Salemba Medika. Jakarta.
- Burrow, W., 1995. **Text Book Microbiology**. Second edition, WB Sanders Company. Philadelphia.
- Dahuri, 2000, **Pengembangan Potensi Rumput Laut di Kabupaten Jeneponto Sulawesi Selatan** (<http://en.wikipedia.org/wiki/Plant>) (diakses pada 12 Januari 2008).
- Ganiswara,S.G., 1995, **Farmakologi dan Terapi Edisi IV**, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Garrity, G., 2000, **Bergey's Manual Systematic Bacteriology 2nd Edition**, [<http://www.cme.msu.edu/Bergey's/outline.prn.pdf>]. Diakses 1 Februari 2008.
- Gritter, R.J., Bobbitts, J.m dan Swarting, A.E., 1991, **Pengantar Kromatografi**, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Halstead, B.W., et al. , 1990, **A Color Atlas Of Dangerous Marine Animals**, CRC Press, Inc, Florida: Hal. 45
- Harborne, J.B., 1987, **Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Mengekstrasi Tumbuhan** Edisi 2. Penerbit ITB. Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J. L. and Adelberg, E. A., 1982. **Microbiology for medicine**. 14th.ed. Lange Medical Publications. Los Altos.California. hal. 258

- Joklik, W. K., Willett, H. P., Amos, D. B. and Wilfert, C. M., 1992. **Zinsser Microbiology**. 20thed. Appleton and Lange. California. Pp. 401-413.
- Leman, M., 2004, Artikel : **Hindari penyalahgunaan antibiotik** :<http://www.medicastore.com/med/artikel.php?id=48&iddtl=&idktg=&idobat=&UID=20081007120729125.167.126.40>
- Murniasih T. , 2003, **Metabolit Sekunder Dari Spons Sebagai Bahan Obat-Obatan**, Jurnal Oceana, Vol. 27, No. 2 : 19 – 27.
- Mycek, M. J., 2001, **Farmakologi ; Ulasan Bergambar Edisi 2**, Widya Medica. Jakarta.
- Neu HC., 2008, **Antimicrobial Chemotherapy**, <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch011.htm>) diakses: 11 May 2008.
- Pelczar, M.J., dan E.C.S.Chan, 1988, **Dasar-Dasar Mikrobiologi 2**, UI-Press, Jakarta.
- Razak A. R. , dan Ahmad R, 2004, **Penapisan Senyawa Antimikroba Dari Beberapa Jenis Bunga Karang Secara Kromatografi Lapis Tipis Bioautografi**, UNTAD
- Rios J.L et al. , 1988, **Screening Methods For Natural Products With Antimicrobial Activity**, journal of echinopharmacology 23: 122-144.
- Suwandi, 1992, **Mekanisme Kerja Antibiotik**, http://www.kalbe.co.id/files/mekanisme_kerja_antibiotik.pdf.html (diakses 1 Feb 2008)
- Tajbakhsh, S., 2008, **Study of Antibacterial Activity of a Green Alga, *Caulerpa Sertularioides* from the Persian Gulf**, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Tjitrosopomo, G, 2003, **Taksonomi Tumbuhan I**, UGM Press, Yogyakarta.
- Wibowo H.M dkk, 2005, **Karakterisasi Fenotipe Isolat *Staphylococcus Aureus* Dari Sampel Susu Sapi Perah Mastitis**, *J. Sain Vet. Vol. 23 No. 2*
- Yasmin, E., 2008, Artikel : **Resistensi Antibiotik, Berbahayakah ?** <http://mama-ibuindonesia.blogspot.com/2008/01/resistensi-antibiotik-berbahayakah.html>

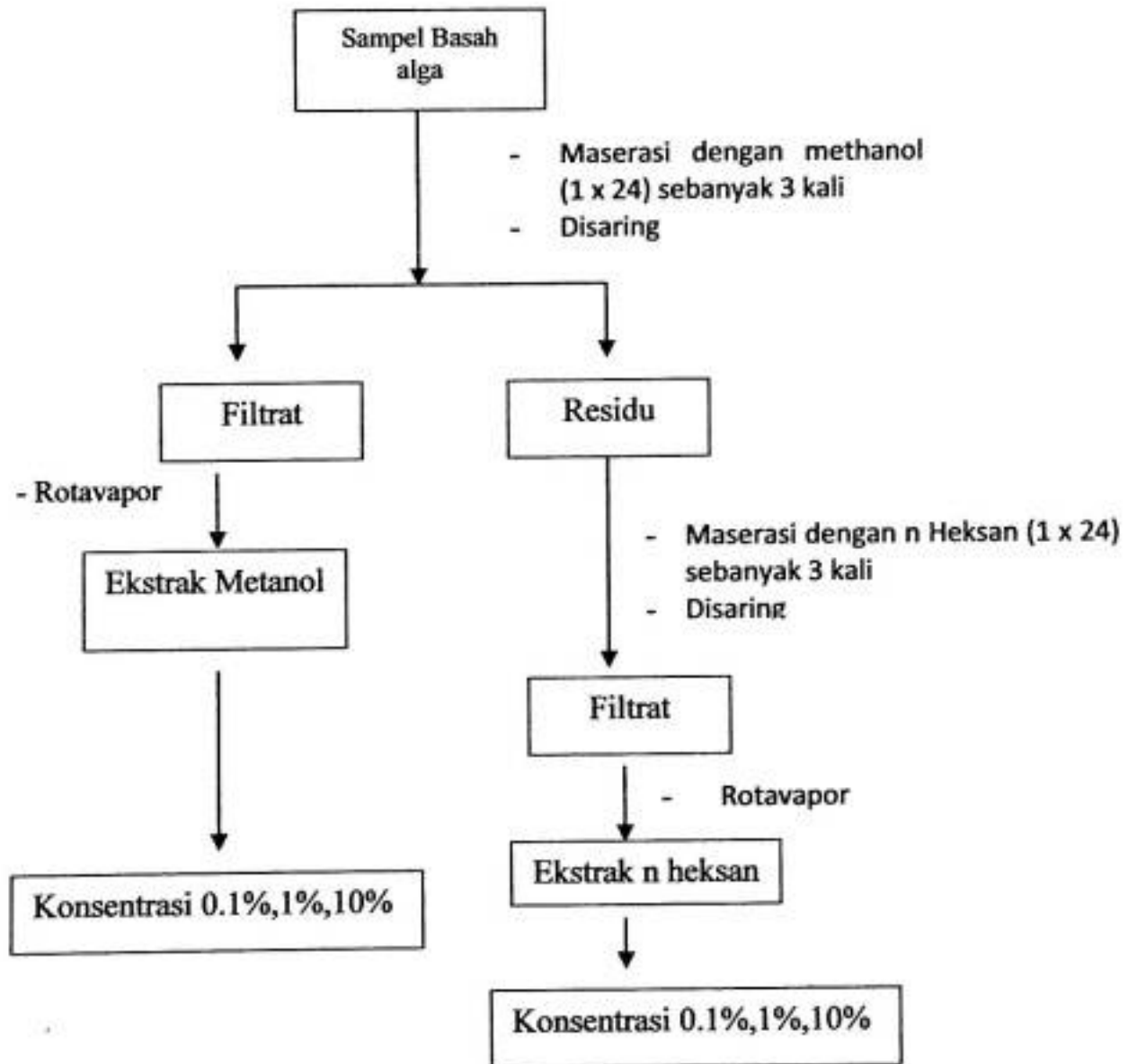
LAMPIRAN I



Sampel *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe

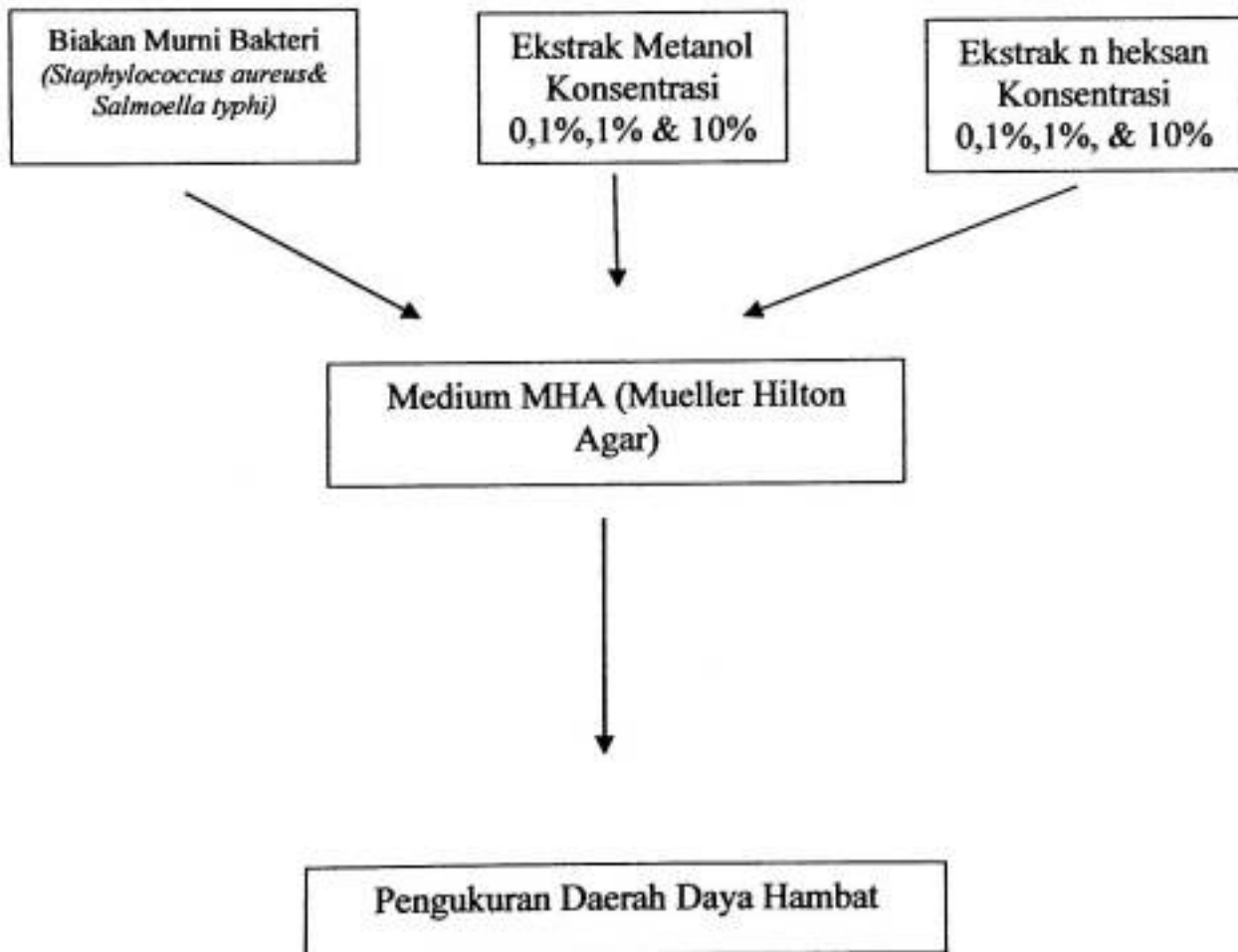
LAMPIRAN II

SKEMA KERJA EKSTRAKSI SAMPEL



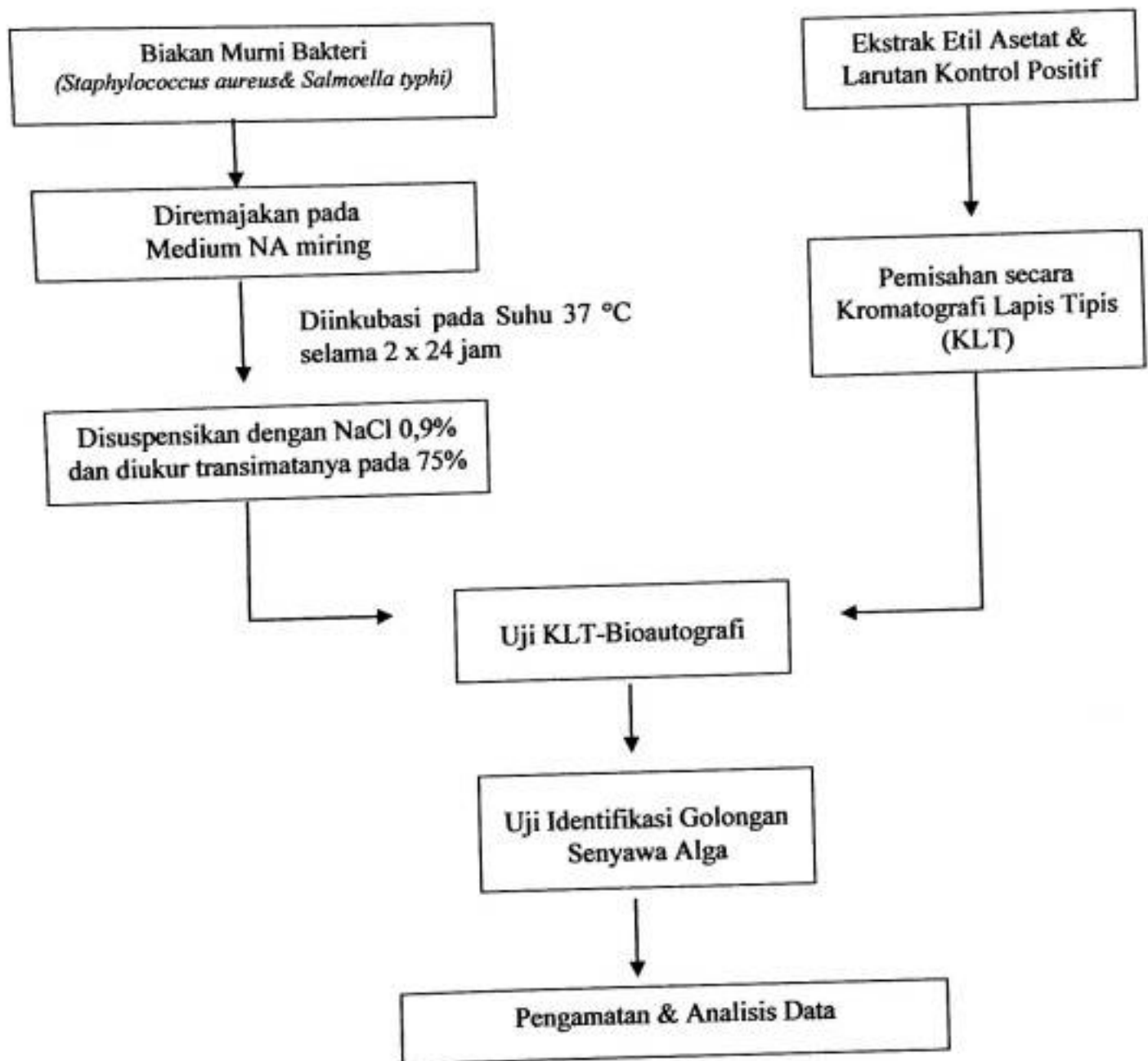
LAMPIRAN III

SKEMA KERJA PENGUJIAN MIKROBIOLOGIS (UJI DAYA HAMBAT)



LAMPIRAN IV

SKEMA KERJA PENGUJIAN KLT-BIOAUTOGRAFI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA ALGA



LAMPIRAN V

Perhitungan nilai Rf

Hasil pemisahan KLT Ekstrak *Caulerpa sertularioides* dengan Penyari Metanol dengan Menggunakan Eluen Heksan : Etil Asetat (3:1) 3 noda dengan perhitungan nilai Rf sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Noda ke-1} &= \frac{4,5}{6} \\ &= 0,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Noda ke-2} &= \frac{4}{6} \\ &= 0,67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Noda ke-3} &= \frac{3,3}{6} \\ &= 0,55 \end{aligned}$$

Hasil pemisahan KLT Ekstrak *Caulerpa sertularioides* dengan penyari heksan dengan menggunakan Eluen Heksan : Etil Asetat (4:1) 3 noda dengan perhitungan nilai Rf sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Noda ke-4} &= \frac{5,5}{6} \\ &= 0,92 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Noda ke-5} &= \frac{3,8}{6} \\ &= 0,63 \end{aligned}$$