SKRINING SENYAWA ANTIBAKTERI DARI CAULERPA RACEMOSA VAR. MACROPHYSA DAN C. SERTULARIOOIDES (GMELIN) HOWE ASAL PERAIRAN PULAU LAE-LAE MAKASSAR

Risco G. Budji Jurusan Biologi FMIPA Universitas Hasanuddin Makassar.

ABSTRAK

Penelitian tentang Skrining Senyawa Antibaktri dari Caulerpa racemosa var. macrophysa dan Caulerpa sertularioides (Gmelin) Howe Asal Perairan Pulau Lae-Lae Makassar, yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa antibakteri. Metoda penelitian meliputi penyarian dengan metoda maserasi menggunakan cairan penyari methanol dan heksan. Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 10%, 1%, 0,1% dan DMSO (dlmetil-sulfookksida) sebagai pengencer dan control negatif. Uji aktifitas antibakteri dari ke 2 ekstrak terhadap Staphylococcus aureus dan Salmonela thypi dilakukana dengan metode difusi pada medium Mueller-Hintonn Agar (MHA) dengan waktu inkubasi 1 x 24 jam pqdq suhu 37o C. Deteksi senyawa antibakteri dilakukan dengan metode KLT-Biautografi kontak. Hasil Uji KLT-Bioautografi kontak terhadap ekstrak methanol C. racemosa var. macrophysa dengan eluen heksan : etilasetat (4 : 1) diperoleh 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,46 yang tergolong senyawa terpenoid dan 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,53 tergolong senyawa steroid. Dari hasil Uji terhadap ekstrak methanol C. sertularioides dengan eluen heksan : etilasetat (4:1) diperoleh 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,67 yang tergolong senyawa terpenoid, dan hasil ekstrak heksaan dengan elluen heksan: etilasetat (3:1) dieroleh 1 noda aktif dengan nilai Rf 0,63 yang tergolong senyawa steroid.

Kata kunci: Caulerpa sertularioides, C.racemosa var macrophysa, KLT – Bioautografi

PENDAHULUAN

Dewasa ini permasalahan kesehatan yang menjadi perhatian dunia adalah banyaknya ragam penyakit . Berdasarkan studi Tjaniadi, dkk. 2003 didapatkan beberapa bakteri patogen yang telah resisten terhadap antibiotika ampisilin, kotrimoxasol, dan tetrasiklin , sehingga sekarang ini telah banyak penelitian-penelitian yang mengarah kepada pencarian serta penemuan jenis antimikroba yang baru dengan memanfaatkan alga sebagai bahan dasar untuk obat-obatan.

Berdasarkan penelitian Sulistijo, dkk. 1993 (dalam Atmadja, 1996), beberapa alga yang berasal dari perairan Indonesia ditemukan memiliki senyawa aktif yang sifatnya sebagai antimikroba terhadap bakteri pathogen salah satunya adalah dari genus Caulerpa.

Penelitian oleh Rianida (2007), menunjukkan bahwa ekstrak *Caulerpa racemosa var. uvifera* (Turner) Weber Va Bosse mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri seperti *E. coli, Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Sedangkan Tajbakhsh, (2008) menunjukkan bahwa ekstrak *C. sertularioides* dari Teluk Persia mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *E. coli* pada konsentrasi 34 mg/ml dan 27,2 mg/ml.

Periaran pantai Makassar, terutama di perairan sekitar Pulau Lae-Lae kaya akan ganggang laut antara lain : *Caulerpa sp, Codium sp, Sargassum sp, Padina sp, Gracillaris sp, Gellidium sp.* Dsb, namun belum dimanfaatkan secara maksimal. (Sutjianto, 1991).

Dengan demikian, perlu dilakukaan penelitian Skrining Senyawa Antibakteri dari *C. racemosa var macrophysa* dan *C. sertularioides* (Gmelin) Howe Asal Perairan Sekitar Pulau Lae-Lae Makassar.

METODE PENELITIAN

Alat-alat gelas yang tahan panas disterilkan dengan oven pada suhu 180°C Selama 2 jam sedangkan alat-alat terbuat dari logam disterilkan dengan cara pemijaran langsung ldi atas api Bunsen.. Medium perbenihan disterilkan dalam otoklaf pada suhu 120°C, tekanan 2 atm selama 15 menit.

Bahan: Sampel diambil dari perairan sekitar P. Lae-lae Makassar, methanol, heksana, Lempeng KLT, Etil asetat, bakteri uji *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*, DMSO, *blank paperdisc*, dll.

Ekstraksi: dillakukan dalam 2 tahap yaitu pertama dengan menggunakan pelarut polar-metanol dan kedua dengan pelarut non-polar n-hekasan. Masing-masing jenis algae ditimbang 100 g, dicuci bersih, dipotong kecil-kecil lalu diblender sampai halus kemudian ditambahkan 200 ml methanol, diaduk rata dan didiamkan selama 1 x 24 jam. Setelah itu disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Hasil ekstraksi kedua pelarut dari kedua jenis Caulerpa tersebut, selanjutnya masing-masing dikisatkan dengan rotavapor untuk menghilangkan cairan penyarinya hingga ekstrak kental. Masing-masing ekstrak dari kedua jenis sampel alga, ditimbaang sebanyak 1 gram didispersikan kedalam 9 ml DMSO steril hingga diperoleh konsentrasi 10 %. Kemudian dibuat konsentrasi bertingkat sampai diperoleh konsentrasi 0,1%. Selanjutnya dilakukan skrining aktivitas antibakterinya dengan metode difusi agar, dengan menggunakan kertas *paperdisc* pada mredium HHA, di inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 35° C. Konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji, dilanjukan dengan analisis KLT – Bioautografinya.

IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIBAKTERI

Ekstrak yang mempunyai aktivitas antibakteri ditotolkan di atas lempeng KLT, lalu dielusi menggunakan cairan pengelusi heksan/etilasetat dan kloroform/methanol/air. Kromatogram yang diperoleh, diamati di bawah sinar UV untuk melihat noda yang tampak. Kromatogram yang sama di letakkan secara aseptic ke atas media yang telah mengandung bakteri uji selama 30 menit. Lalu diinkubasi selama 1 x 24 jam untuk melihat aktivitas antibakterinya. Noda yang memperlihatkan aktivitas antibakteri, diukur nilai Rfnya dan diidentifikasi menggunakan pereaksi-pereaksi kimia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa ekstrak *C. sertularioides* dengan penyari methanol hanya menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonela typhi* suatu bakteri Gram negative dan dengan penyari heksan hanya menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* suatu bakteri Gram positif, yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening disekitar bakteri uji. Hal ini menunujukkan

bahwa ekstrak *C. sertularioides* mengandung senyawa antibakteri spektrum sempit. Pengukuran diameter hambatan dari ekstrak *C. sertularioides* baik penyari methanol maupun heksan terhadap bakteri uji menunjukkan peningkatan diameter zona hambatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, seperti pada TABEL 1. Sbb:

Tabel 1. Data pengukuran diameter hambatan Ekstrak *C. sertularioides* dengan penyari Methanol dan hekasan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*

Jenis Bakteri	Diameter Zona Hambatan (mm)							
	Ekstrak Metanol			Ekst	rak n-he	Kontrol Negatif		
	0,1%	1%	10%	0,1%	1%	10%	Kontroi Negatii	
Salmonella typhi	5,2	6,2	7,9	0	0	0	0	
Staphylococcus aureus	0	0	0	7,2	8,1	8,9	0	

Data hasil uji daya hambat ekstrak *C. racemosa var. macrophys*a baik dengan penyari methanol maupun heksan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*, yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening disekitar bakteri uji. Dan ini menunjukkan bahwa ekstrak *C. racemosa var. macrophysa* mengandung senyawa antibakteri spektrum luas karena dapat menghambat bakteri positif maupun bakteri negatif. Juga terjadi peningkatan diameter zona hamabatan seiring dengan peningkatan konsentrasii ekstrak, seperti pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Data diameter zona hambatan ekstrak *Caulerpa racemosa var macrophysa* dengan penyari methanol dan heksan terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Jenis Bakteri		Diameter Zona Hambatan (mm)							
	Ekstrak Metanol			Eks	trak n-he	Kontrol Negatif			
	0,1%	1%	10%	0,1%	1%	10%	Nontrol Negatii		
Staphylococcus aureus	4,9	6,1	6,8	3,05	4,2	5,4	0		
Salmonella thypi	5,8	7,5	8,4	4,2	6,95	7,53	0		

Menurut Winarno (dalam Atmaja, 1996), Caulerpa racemosa dan Caulerpa sertularioides memiliki kandungan kimia yang sama antara lain: Caulerpicin, Caulerpin. Dari hasil penelitian Tajbakhsh et al (2008) menunjukkan bahwa C. sertularioides yang diekstraksi menggunakan gliserin memiliki aktivitas antibakteri terhadap Staphylococcus epidermis dan E. coli, sedangkan hasil penelitian Kandhasamy (2008) mendapatkaan bahwa ekstrak C. racemesa yang diekstraksi dengan methanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap Staphylococcus aureus dan Bacillus subtilis tetapi tidak terhadap E.coli.

Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan metode KLT. Senyawa yang telah terpisah selanjutnya akan Nampak sebagai noda pada permukaan KLT dan masing-masing noda memiliki nilai Rf (Reterdation factor) yang berbeda pula. Perbedaan nilai Rf ini menunjukkan letak masing-masing noda (senyawa) dalam kromatogram.

Pemisahan komponen kimia ekstrak *Caulerpa sertularioides* dan C. racemosa var macrophysa secara kromatografi Lapis Tipis (KLT), diperlihatkan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Hasil Pemisahan Senyawa Secara KLT Ekstrak *Caulerpa sertularioides* dengan menggunakan Eluen Heksan : Etil Asetat (3:1) dengan penyari methanol dan Eluen Heksan : Etil Asetat dengan penyari Heksan.

Sampel	Eluen Heksan:Etil Asetat								
Caulerpa sertularioides	Ekstrak Met	anol (3:1)	Ekstrak Heksan (4:1)						
	Jumlah Noda	Nilai Rf	Jumlah Noda	Nilai Rf					
		0,75		0,92					
	3	0,67	2	0,63					
		0,55							

Berdasarkan hasil KLT yang diperoleh pada Tabel 3 diketahui bahawa pada ekstrak *C. sertularioides* dengan penyari methanol terdapat 3 noda dengan nilai Rf 0,75; 0,67; 0,55 sedangkan ekstrak dengan penyari heksan terdapat 2 noda dengan nilai Rf 0,92 dan 0,63. Yang diperlihatkan dengan penampak noda sinar UV 366 nm. Hal ini berarti terdapat 3 komponen senyawa yang larut pada ekstraki methanol dan 2 komponen senyawa yang larut pada ekstrak heksan. 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.

Tabel 4. Data pemisahan Senyawa Secara KLT Ekstrak *Caulerpa racemosa var macrophysa* dengan eluen Heksan : Etil Asetat (3:1) dengan penyari methanol dan Eluen Heksan : Etil Asetat (4:1) dengan penyari heksan.

Sampel	Eluen Heksan:Etil Asetat						
	Ekstrak Metano	ol (3:1)	Ekstrak Heksar	n (4:1)			
Caulerpa racemosa var. macrophysa	Jumlah Noda	Nilai Rf	Jumlah Noda	Nilai Rf			
		0,83		0,083			
		0,13	_	0,33			
	6	0,21		0,46			
	6	0,36	4				
		0,45		0,53			
		0,56					

Dari table 4 nampak bahwa hasil pemisahan senyawa secara KLT dengan menggunakan eluen heksan : etilasetat (3:1) untuk penyari methanol terdapat 6 noda dengan nilai Rf 0,08; Rf 0,13; Rf 0,21; Rf 0,36; Rf 0. 45 dan Rf 0, 53., sedangkaan eluen heksan : etiasetat (4:1) untuk penyari heksan terdapat 4 noda dengan nilai Rf 0,08; Rf 0,33, Rf 0, 46 dan Rf 0, 53, Hal ini berarti ada 6 kompenen senyawa yang larut dalam methanol dan 4 komponen senyawa yang larut dalam heksan.

Hasil yang diperoleh dari pemisahan senyawa secara KLT dilanjutkan dengan pengujian secara KLT-Bioautografi untuk menlihat noda-noda aktif dalam mmenghaambat pertumbuhan bakteri uji Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi.

Hasil yang diperoleh pada KLT-Bioautografi kontak untuk ekstrak *C. racemosa var macrophysa* dan ekstrak *C, sertularioides* dengan penyari methanol dan heksan.menggunakan eluen heksan : etil asetat (3:1) dan eluen heksan : etil asetat (4:1) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, disajikan pada tabel 5 dan tabel 6.

Tabel 5. Hasil KLT-Bioautografi ekstrak *C. racemosa var macrophysa* dengan penyari methanol dengan menggunakan eluen hekasan : etil asetat (3 :;1) dan penyari Heksan dengan eluen heksan : etil asetat (4 : 1).terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Saalmonella thypi*.

	E	kstrak Metai	nol	Ekstrak Heksan			
Jenis Bakteri	Jumlah	Noda	Nilai	Jumlah	Noda	Nilai	
	Noda	Aktif	Rf	Noda	Aktif	Rf	
Stapylococcus aureus	6	1	0,,53	4	1	0,46	
Salmonella typhi	6	2	0,21	4	2	0,33	
			0,53			0,53	

Tabel di atas menunjukkan banyaknyaa senyawa bioaktif dari ekstrak *C. racemosa var. macrophysa* dapat menghambat pertumbuhan kedua jenis bakteri uji. Pada ekstrak yang menggunakan eluen heksan : etil asetat (3: 1) dengan penyari methanol menunjukkan adanyaa satu noda aktif dengan nilai Rf 0, 53 menghambat ppertumbuhan kedua bakteri uji, ini berarti komponen senyawa ini berspektrum luas karena memiliki kemampuan menghambat bakteri gram positif dan gram negatif yaitu : *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Sedangkan noda aktif dengan nilai Rf 0,21 menunjukkan komponen senyawa ini berspektrum sempit karena hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella aureus* suatu bakteri gram negatif. Untuk ekstrak yang menggunakan eluen heksan : etil asetat (4 : 1) dengan penyari heksan menunjukkan satu noda dengan nilai Rf 0, 46. Hal ini berarti senyawa berspekktrum sempit karena hanya menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* suatu bakteri gram positif, sedangkan dua noda lainnya dengan nilai Rf 0,33 dan Rf 0,53 juga berspekktrum sempit karena hanya menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* suatu bakteri gram negatif.

Tabel 6. Hasil KLT- Bioautografi ekstrak C.sertularioides penyari metanol dengan menggunakan eluen heksan : etilasetat (3:1) dan penyari heksan menggunakan eluen heksan : etil asetat (4:1).

	Noda	Nilai	Bakteri Uji			
Penyari	ke	Rf	Staphylococcus aureus	Salmonella typhi		
	1	0,75	-	-		
Ekstrak	2	0,67	-	+		
metanol	3	0,55	-	-		
Ekstrak	1	0,92	-			
heksan	2	0,63	+	-		

Keterangan: - : negatif, tidak menghambat pertumbuhan bakteri

+: positif, menghambat pertumbuhan bakteri (aktif)

Dari tabel 6 di atas bahwa ekstrak *C. sertularioides* penyari methanol dari 3 noda yang diperoleh hanya satu noda aktif dengan nilai Rf 0,67 yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Salmonella typhi dan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan komponen senyawa ini berspektrum sempit karena hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif. Sedangkan ekstrak *C. sertularioides* penyari heksan dari 2 noda yang diperoleh hanya satu noda dengan nilai Rf 0,63 yang dapat menghambat pertumbuhan bakkteri *Staphylococcus aureus*. Ini berarti bahwa bahwa komponen senyawa ekstrak ini berspektrum sempit karena hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif.

Noda-noda aktif pada kromatogram tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji Staphyloccoccus aureus dan Salmonella typhi disebabkan oleh adanya konsentrasi zat sebagai antibakteri yang cukup tinggi. Selain itu pemakaian eluen sebagai campuran pelarut organik dengan perbandingan yang berbeda akan mempengaruhi pemisahan molekul-molekul zat yang terkandung baik dalam racemosa var macrophysa maupun .dalam Caulerpa sertularioides (Rahalison, 1991). Noda-noda aktif yang terbentuk pada lempeng kromatografi selanjutnya diidentifikasi dengan beberapa pereaksi kimia untuk menentukan golongan senyawanya. Hasil identifikasi disajikan pada tabel 7 dan tabel 8 berikut :

Tabel 7. Hasil identifikasi noda-noda aktif senyawa ekstrak *Caulerpa racemosa var macrophysa* dengan pereaksi-pereaksi kimia pada lempeng KLT.

			Penyari	Metanol		Penyar	i Heksan		
No	Nama				Nilai				Nilai
	Pereaksi	Warna	Hasil	Golongan	Rf	Warna	Hasil	Golongan	Rf
	Libermann								
1	Burchard	-	-	-	-	Merah	+	Terpenoid	0,46
	Vanilin-								
2	Asam Sulfat	Ungu	+	Steroid	0,21	Ungu	+	Steroid	0,53

Ket . - : negatif, tidak menunjukkan golongan Senyawa Terpenoid maupun Steeroid.

+: positif, menunjukkan golongan senyawa Terpenoid maupun Steroid

Hasil yang diperoleh pada identifikasi seperti pada tabel diatas bahwa ekstrak *Caulerpa racemosa var macrophysa* penyari methanol terhadap pereaksi Libermann Burchad, menunjukkan hasil negatif artinya noda aktif tidak meengandung senyawa tergolong terpenoid, sedangkan terhadap pereaksi Vanilin –Asam sulfat hasilnya memberikan warna Ungu, hasil positif yang tergolong senyawa Steroid terhadap noda aktif dengan nilai Rf 0,21. Pada ekstrak penyari heksan terhadap pereaksi Libermann Burchad memberikan warna merah, hasil positif yang tergolong senyawa terpenoid terhadap noda aktif dengan nilai Rf 0,46.dan terhadap pereaksi Vanilin-asam sulfat memberikan warna ungu, hasialnya positif dan tergolong senyawa Steroid terhadap noda aktif dengan nilai Rf 0,53.

Menurut Maxwell (1990), ekstrak C. racemosa menghasilkan Caulerpicin dan Caulerpin. Dimana Caulerpicin itu sendiri merupakan gabungan 2 senyawa hidroxy amida homolog yaitu 2 N-Asysphinganines dengan struktur atam $C_{43}H_{87}O_2N$ dan bila dilihat dari jumlah atom C tergolong golongan senyawa terpenoid sedangkan Caulerpin memiliki struktur atom $C_{24}H_{18}N_2O_4$ dan dari jumlah atom C tergolong senyawa steroid.

Tabel 8. Hasil ideentifikasi noda-noda aktif senyawa ekstrak *C. sertularioides* dengan pereaksi – pereaksi kimia pada lempeng KLT.

		Penyari Metanol				Penyari Heksan			
No	Nama Pereaksi				Nilai				Nilai
		Warna	Hasil	Golongan	Rf	Warna	Hasil	Golongan	Rf
	Libermann-								
1	Buchard	Merah	+	Terpenoid	0,67	-	-	-	-
	Vanilin-								
2	Asam sulfat	-	1	-	1	Ungu	+	Steroid	0,63

Ket. (-) negative, tidak menunjukkan golongan senyawa Terpenoid ataupun Steroid

(+) positif, menunjukkan adanya golongan senyawa terpenoid ataupun Steroid

Hasil identifikasi dengan pereaksi Libermann-Buchard terhadap noda aktif dengan Nilai Rf 0,67 menunjukkan noda berwarna merah, hal ini menandakan bahwa noda aktif tersebut mengandung senyawa yang tergolong terpenoid. Sedangkan hasil identifikasi dengaan pereaksi Vanilin-Asam Sulfat terhadap noda aktif dengan nilai Rf 0,63 menunjukkan warna Ungu dan hal ini berarti noda aktif tersebut mengandung senyawa yang termasuk golongan Steroid.

Terbentuknya warna pada noda-noda aktif tersebut karena adanya reaksi antara senyawa antibakteri dengan pereaksi kimia yang digunakan. Dari hasil identifikasi di atas diketahui bahwa ekstrak *Caulerpa sertularioides* dengan penyari methanol dan heksan mengandung senyawa Terpenoid dan Steroid (Gritter, 1991)

KESIMPULAN

- 1. Ekstrak *Caulerpa racemosa var macrophysa* dan *Caulerpa sertularioides* bersifat antibakteri karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Salmonella typhi* (Gram negatif).
- 2. Ekstrak *C. racemosa var macrophysa* dan *C. sertularioid*es baik dengan penyari methanol maupun penyari heksan mengandung senyawa tergolong Terpenoid dan Steroid.

SARAN

- 1. Hasil penelitian menunjukkan potensi ekstrak *C. racemosa var macrophysa* dan *C. sertularioides* sebagai sumber senyawa alami yang bersifat antibakteri sehingga perlu dikembangkan agar dapat menjadi bahan antibakteri baru dimasa yanag akan datang
- 2. Perlu dilakukan penelitian terhadap jenis-jenis algae lainnya asal perairan Indonesia dalam hal kandungan senyawa antibakterinya, agar dapat menambah sumber senyawa alami yang bersifat antibakteri.
- 3. Perlu membudidayakan jenis-jenis algae yang mengandung senyawa alami yang bersifat antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Atmadja. W.S, 1996. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseaanologi LIPI, Jakarta
- [2] Gritter, R.J., Bobbits, J.M dan Scwarting, A.E., 1991. Pengantar Kromatografi, Institut Teknologi Bandung, Bandung
- [3] Tajbakhsh. S, 2008. Study of Antibacterial Activity of a Green Algae Caulerpa sertularioides from The Persian Gulf, Kuala Lumpur, Malaysia
- [4] Rahalison, L., Hostettman, K, 1991. A. Bioautography Agar Overlay Method for the Detection of antifungal Compounds from Higher Plants. Phytochemical Analysis, Vol. 2. University de Lausanne, Switzerland.

KEMBALI KE DAFTAR ISI