

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

B. Hasil Penelitian

1. Karakteristik objek penelitian

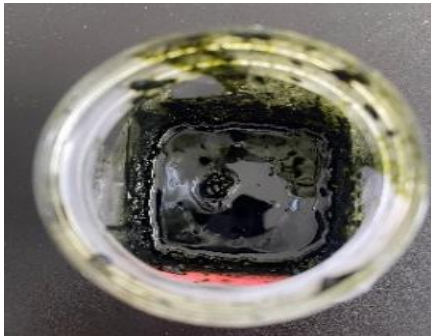


Gambar 7. Anggur laut (*Caulerpa sp*)

(Sumber: Data Primer 2025)

Objek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel Anggur laut (*Caulerpa sp*). Sampel Anggur laut berasal dari perairan di Desa Sumberkima, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng, Provinsi Bali. Anggur laut (*Caulerpa sp*) yang diuji memiliki beberapa karakteristik yaitu di antaranya: Anggur laut yang digunakan berwarna hijau, bagian yang digunakan yaitu batang (stolon) ukurannya berkisar 2-10 cm dan berbentuk bulat atau lonjong (ramuli) yang berukuran 3,2 mm, dan akar (rhizoid) berukuran 1-2 cm.

2. Ekstrak kental Anggur laut (*Caulerpa sp*)



Gambar 8. Ekstrak Kental Anggur laut

(Sumber: Dokumentasi pribadi., 2025)

3. Hasil perhitungan presentase rendeman

$$\begin{aligned} & \left(\frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \right) \\ &= \frac{21,5}{300} \times 100\% \\ &= 7,17\% \end{aligned}$$

Berdasarkan hasil perhitungan presentase rendeman memperoleh hasil rendeman 7,17%. Menurut Ramadhani M., dkk 2024 persyaratan rendeman yang baik hasilnya >10%, semakin besar nilai rendemen yang diperoleh, maka semakin banyak pula ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi. Persentase rendemen dihitung untuk mengetahui seberapa banyak bahan simplisia yang diperlukan guna memperoleh jumlah ekstrak tertentu. Nilai rendemen ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam menentukan jumlah simplisia yang dibutuhkan untuk menghasilkan sejumlah ekstrak kental. Selain itu, penentuan rendemen juga bermanfaat untuk mengidentifikasi seberapa besar kandungan metabolit sekunder yang berhasil diekstraksi oleh pelarut yang digunakan.

4. Hasil Uji Organoleptis

Tabel 4
Karakteristik Ekstrak Etanol Anggur laut (*Caulerpa sp*)

Ekstrak	Berat	Hasil	Bentuk	Warna	Rasa	Bau
	Simplisia	Rendeman				
Ekstrak	300	7,17%	Serbuk	Hijau	Amis	Asin
Etanol	Gram		kasar			
96%						

(Sumber: Data Primer 2025)

Penelitian ini menggunakan bahan baku segar Anggur laut sebanyak 10 kg dan menghasilkan simplisia kering sebanyak 300 gram. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Berdasarkan hasil perhitungan rendeman didapatkan rendeman pada ekstrak etanol 96% sebanyak 7,17%. Hasil organoleptis menunjukkan bentuk ekstrak Anggur laut serbuk kasar, warnanya hijau, rasanya amis, baunya asin.

5. Hasil uji skrining fitokimia

Tabel 5
Hasil Uji Skrining Fitokimia

No	Uji Fitokimia	Hasil
1	Alkaloid	Negatif (-)
2	Flavonoid	Negatif (-)
3	Tanin	Positif (+)
4	Saponin	Negatif (-)
5	Trepenoid	Negatif (-)

(Sumber: Data Primer 2025)

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia, bahwasannya ekstrak Anggur laut (*Caulerpa sp*) mengandung senyawa tanin.

6. Hasil identifikasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol Anggur laut dengan metode difusi sumuran

Anggur laut yang sudah menjadi ekstrak kental 100% dibuatkan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% pada tabung reaksi, dibuatkan suspensi bakteri kemudian diisolasi pada media MHA dengan metode difusi sumuran dibuat lubang sumuran dan ditambahkan perlakuan kontrol negatif, kontrol positif, serta konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% lalu di inkubasi di inkubator selama 24 jam, lalu diukur zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Pada sampel Anggur laut dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% terbentuk zona hambat yang lemah, pada kontrol positif terbentuk zona hambat yang sangat kuat dan kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat, dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 6
Hasil Uji Antibakteri Metode Sumuran

Pengulangan	K (+) (mm)	K (-) (mm)	Diameter Zona Hambat (mm)			
			5%	10%	15%	20%
I	34,93	0	0,28	1,68	1,70	1,95
II	38,29	0	0,4	1,1	2,22	2,68
III	33,91	0	0,25	0,40	1,45	2,05
IV	29,9	0	0,22	0,77	2,09	2,42
Rata-rata	34,26 ± 3,46	0	0,26 ± 0,12	1,35 ± 0,78	2,02 ± 0,35	2,28 ± 0,34
Interpretasi	Sangat kuat	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah	Lemah

(Sumber: Data Primer 2025)

7. Hasil analisis data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat dari penelitian ini kemudian dianalisis dengan uji statistik. Langkah awal yang dilakukan adalah memeriksa normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk*.

a. Uji normalitas *Shapiro Wilk*

Penelitian ini menggunakan uji normalitas yaitu uji *Shapiro Wilk*, dengan hasil uji pada tabel berikut.

Tabel 7
Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Kelompok Perlakuan	Statistic	Df	Sig.
K (+)	0,984	4	0,923
5%	0,887	4	0,369
10%	0,987	4	0,943
15%	0,938	4	0,644
20%	0,930	4	0,592

(Sumber: Data Primer 2025)

Berdasarkan tabel 7 hasil uji normalitas didapatkan nilai Sig. $p \geq 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa data diameter zona hambat bermakna seluruh data kelompok perlakuan berdistribusi secara normal. Karena data berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji homogenitas.

b. Uji homogenitas *Levene's Test*

Penelitian ini menggunakan uji homogenitas yaitu uji *Levene's Test*, dengan hasil uji pada tabel berikut.

Tabel 8
Uji Homogenitas *Levene's Test*

No	Diameter zona hambat	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1	Based on Mean	4,071	5	18	0,012
2	Based on Median	4,037	5	18	0,012
3	Based on Median and with adjusted df	4,037	5	3,151	0,133
4	Based on trimmed mean	4,071	5	18	0,012

(Sumber: Data Primer 2025)

Berdasarkan tabel 8 hasil uji *Levene Statistic* didapatkan nilai Sig. 0,012 $p \leq 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa seluruh data kelompok perlakuan tidak homogen. Karena data berdistribusi tidak homogen maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*.

c. Uji *One Way ANOVA*

Penelitian ini menggunakan uji hipotesis yaitu uji *One Way ANOVA* dengan hasil uji pada tabel berikut.

Tabel 9
Uji *One Way ANOVA*

Variabel	Sig.
Perlakuan	0,000

(Sumber: Data Primer 2025)

Berdasarkan tabel 9 hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai Sig. 0,000 $p \leq 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa data kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan. Karena data memiliki perbedaan yang signifikan. maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Games-Howell*.

d. Uji *Post Hoc Games-Howell*

Penelitian ini menggunakan uji *Post Hoc* yaitu Uji *Post Hoc Games-Howell* dengan hasil uji pada tabel berikut:

Tabel 10
Uji *Post Hoc Games-Howell*

Perlakuan 1	Perlakuan 2	Sig.	Keterangan
K (+)	K (-)	0,001	$p < (0,05)$
	5%	0,001	$p < (0,05)$
	10%	0,001	$p < (0,05)$
	15%	0,001	$p < (0,05)$
	20%	0,002	$p < (0,05)$
K (-)	5%	0,025	$P < (0,05)$
	10%	0,155	$p > (0,05)$

	15%	0,009	p< (0,05)
	20%	0,004	p< (0,05)
5%	K (+)	0,001	p< (0,05)
	K (-)	0,025	P< (0,05)
	10%	0,322	p> (0,05)
	15%	0,011	p< (0,05)
	20%	0,005	p< (0,05)
10%	K (+)	0,001	p< (0,05)
	K (-)	0,155	p> (0,05)
	5%	0,322	p> (0,05)
	15%	0,220	p> (0,05)
	20%	0,062	p> (0,05)
15%	K (+)	0,001	p< (0,05)
	K (-)	0,009	p< (0,05)
	5%	0,011	p< (0,05)
	10%	0,220	p> (0,05)
	20%	0,587	p> (0,05)
20%	K (+)	0,002	p< (0,05)
	K (-)	0,004	p< (0,05)
	5%	0,005	p< (0,05)
	10%	0,062	p> (0,05)
	15%	0,587	p> (0,05)

(Sumber: Data Primer 2025)

Berdasarkan tabel 10 hasil Uji *Post Hoc Games-Howell* dapat disimpulkan bahwa didapatkan nilai Sig. $p \leq 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan antar kelompok secara nyata yaitu kontrol positif dengan seluruh kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan zona hambat. Kontrol negatif dengan kontrol positif, konsentrasi 5%, 15%,20% menunjukkan adanya perbedaan zona hambat, Konsentrasi 5% dengan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 15%,20% menunjukkan adanya perbedaan zona hambat, Konsentrasi 10% dengan kontrol positif menunjukkan adanya perbedaan zona hambat, Konsentrasi 15% dengan kontrol positif, kontrol negatif menunjukkan adanya perbedaan zona hambat, Konsentrasi 20% dengan kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 5% menunjukkan adanya perbedaan zona hambat

8. Hasil identifikasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol anggur laut dengan metode dilusi

Anggur laut yang sudah menjadi ekstrak kental 100% disiapkan sebanyak 0,5 ml, siapkan 6 tabung reaksi diberi label dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,1%, 1,5%. Kemudian tambahkan 0,5 ml media *Muller Hinton Broth* (MHB) ke 6 tabung tersebut, tambahkan ekstrak di tabung konsentrasi 50% saja kemudian homogenkan dan lakukan pengenceran berseri ambil 0,5 ml sampai tabung terakhir, lalu tambahkan suspensi bakteri 0,5 ml, tabung 7 hanya berisi ekstrak Anggur laut, tabung 8 berisi media MHB dan suspensi bakteri dilakukan uji KBM pada media MHA di ambil sampel pada tabung 1-8 lalu dilakukan penanaman ke media MHA dengan cara di streak sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi, untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, hasil dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 11
Hasil Uji Dilusi Sebelum Inkubasi

No	Konsentrasi	Hasil
1	50%	Tumbuh
2	25%	Tumbuh
3	12,5%	Tumbuh
4	6,25%	Tumbuh
5	3,1%	Tumbuh
6	1,5%	Tumbuh
7	Ekstrak Anggur laut	Tidak tumbuh
8	Kontrol (-)	Tumbuh

(Sumber: Data Primer 2025)

Tabel 12
Hasil Uji Dilusi Sesudah Inkubasi

No	Konsentrasi	Hasil
1	50%	Tidak tumbuh
2	25%	Tidak tumbuh
3	12,5%	Tumbuh
4	6,25%	Tumbuh
5	3,1%	Tumbuh
6	1,5%	Tumbuh
7	Ekstrak Anggur laut	Tidak tumbuh
8	Kontrol (-)	Tumbuh

(Sumber: Data Primer 2025)

9. Pembahasan

a. Uji antibakteri metode difusi sumuran

Uji antibakteri dengan metode sumuran menggunakan sampel Anggur laut (*Caulerpa sp*) merupakan makroalga yang dapat dikonsumsi dan mengandung senyawa bioaktif yang memiliki khasiat antibakteri, antijamur, dan antikanker, zat antibakteri dapat dilihat dari hasil analisis uji skrining fitokimia bahwa uji fitokimia merupakan metode kualitatif yang bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa aktif dalam suatu ekstrak. Berdasarkan hasil analisis ekstrak etanol 96% dari Anggur laut (*Caulerpa sp*) mengandung senyawa tanin dengan hasil positif.

Mekanisme kerja tanin sebagai agen antibakteri berkaitan dengan kemampuannya dalam menghambat aktivitas enzim-enzim esensial pada bakteri. Tanin mampu menurunkan fungsi enzim terlibat dalam proses penting seperti respirasi, sintesis DNA, dan sintesis protein, yang pada akhirnya mengganggu proses seluler bakteri. Tanin juga berperan dalam menonaktifkan adhesin pada permukaan sel bakteri, sehingga menghambat kemampuan bakteri untuk menempel pada jaringan inang yang menjadi target infeksi (Sujana, Katja, & Koleangan, 2024).

Berdasarkan hasil penelitian uji antibakteri metode difusi sumuran dengan empat kali pengulangan dengan perlakuan kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%. Pada kontrol positif memperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 34,25 mm, konsentrasi 5% memperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 0,26 mm, konsentrasi 10% memperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 1,35 mm, konsentrasi 15% memperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 2,02 mm, konsentrasi 20% memperoleh nilai rata-rata diameter zona hambat sebesar 2,28 mm kemudian kontrol negatif hasilnya 0 mm tidak ada zona hambat yang terbentuk.

Hasil dalam penelitian ini kontrol positiflah yang paling besar daya hambatnya dikategorikan sangat kuat karena hasil yang diperoleh ≥ 20 mm, kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik ampicillin yang menandakan bahwa antibiotik ampicillin ini masih sensitif terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sp* dan antibiotik ini bisa digunakan pada penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus sp*, Mekanisme utama resistensi bakteri gram-positif terhadap antibiotik ampicillin terjadi melalui produksi enzim beta-laktamase. Enzim ini berfungsi dengan menghancurkan cincin beta-laktam pada struktur ampicillin, sehingga menyebabkan antibiotik tersebut kehilangan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Khoiru Indana, Effendi, & Soeharsono, 2020). Konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% dikategorikan lemah karena hasil yang diperoleh ≤ 5 mm, hal ini menunjukkan efektivitas Anggur laut uji antibakteri dengan metode sumuran dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% itu tidak cukup kuat atau lemah, kemudian kontrol negatif tidak terdapat zona hambat yang menandakan bahwa

pelarut etanol 96% yang digunakan dalam penelitian ini tidak memiliki aktivitas antibakteri.

b. Uji antibakteri metode dilusi

Setelah dilakukan pengujian antibakteri dengan metode sumuran memperoleh hasil lemah pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri yang dihasilkan tergolong lemah, sehingga peneliti melanjutkan pengujian menggunakan metode dilusi uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) untuk melihat di konsentrasi berapa ekstrak Anggur laut mampu membunuh bakteri *Streptococcus sp.* Peneliti tidak melakukan uji pengukuran absorbansi dikarenakan sampel ekstrak Anggur laut kasar, dan terdapat endapan tidak akan terbaca pada alat spektrofotometer, dan peneliti juga tidak melakukan uji secara visual melihat kekeruhan dan kejernihan dikarenakan ada endapan sampel pada tabung tidak terlihat jelas apakah bakterinya sudah benar-benar mati atau berada di bawah endapan sampel, lalu peneliti memilih alternatif lain dengan di gores ditanam pada media MHA sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi dengan suhu 37°C untuk memastikan pada konsentrasi berapa ekstrak Anggur laut mampu menghambat bakteri *Streptococcus sp.*

Berdasarkan uji antibakteri metode dilusi dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,1%, 1,5%, ekstrak Anggur laut dan kontrol negatif dilakukan pengenceran berseri lalu di gores pada media MHA sebelum inkubasi memperoleh hasil konsentrasi 50%, 25%, 12,5% 6,25%, 3,1%, 1,5% dan kontrol negatif terdapat pertumbuhan bakteri, ekstrak Anggur laut tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Dilakukan penanaman dengan cara digores ke media MHA setelah inkubasi memperoleh hasil 50%, 25%, dan ekstrak Anggur laut tidak terdapat pertumbuhan

bakteri, konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,1%, 1,5% dan kontrol negatif terdapat pertumbuhan bakteri. Dari hasil tersebut konsentrasi 50% dan 25% yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sp* oleh ekstrak Anggur laut maka *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) pada konsentrasi 25%, konsentrasi 25%. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terendah yang tidak lagi menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sehingga ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol Anggur Laut (*Caulerpa sp*) terhadap bakteri *Streptococcus sp*. Nilai ini menunjukkan konsentrasi minimum ekstrak yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara signifikan.

Pada penelitian ini uji antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20%, hasil pengujian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus sp* dalam kategori lemah. Oleh sebab itu peneliti melanjutkan pengujian menggunakan metode dilusi, hasil uji dilusi diketahui mulai dari konsentrasi 25% sudah mampu membunuh bakteri *Streptococcus sp*, aktivitas antibakteri yang lemah pada metode difusi sumuran disebabkan oleh penggunaan konsentrasi yang relatif rendah sehingga tidak cukup efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri menggunakan variasi konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% dengan menggunakan bakteri *Streptococcus sp*. Menurut penelitian Marfuah Isnaini, Dewi Eko N, & Rianingsih Laras., 2018 didapatkan hasil uji Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan bakteri *E. Coli* menggunakan metode sumuran konsentrasi 5% hasilnya 3,53 mm, 10% hasilnya 5,78 dan 15% hasilnya 6,95 mm hasil tersebut sama dengan penelitian ini termasuk kategori lemah jika menggunakan konsentrasi yang rendah.

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% dengan sifat kepolaritasan polar mampu mengekstrak senyawa polar hingga semi-polar, bersifat antimikroba, tidak merusak senyawa aktif yang sensitif terhadap air, membantu pelarut menembus dinding sel bahan alam, melepaskan senyawa aktif secara lebih efisien, dapat mengambil senyawa yang sesuai seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid dalam senyawa metabolit sekunder dengan lebih maksimal (Adriana U, Nofita, & Marcelia S., 2024). Hasil uji skrining fitokimia pada penelitian ini yang positif hanya senyawa tanin, hasil negatif pada uji skrining alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid pada ekstrak etanol Anggur laut disebabkan oleh beberapa faktor seperti konsentrasi terlalu rendah dari senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid pada ekstrak etanol Anggur laut.

Proses ekstraksi mungkin tidak efisien dalam mengekstrak senyawa atau konsentrasi dalam Anggur laut memang rendah. Penyebab lain dari hasil negatif kemungkinan metode yang digunakan dalam uji skrining kurang sensitif. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak Anggur laut berkontribusi dengan hasil uji antibakteri metode difusi sumuran dalam kategori lemah. Faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri yaitu rendemen, dimana semakin tinggi rendemen maka kandungan metabolit sekundernya semakin banyak, hasil presentase rendemen pada penelitian ini yaitu 7,17% dimana hasil tersebut kurang baik karena hasil presentase rendemen yang baik >10% (Ramadhani M., dkk 2024). Pelarut yang dipakai dalam penelitian ini adalah etanol 96% dimana hasil rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 7,17%, yang tergolong rendah, rendahnya rendemen ini kemungkinan disebabkan oleh jenis pelarut yang digunakan menggunakan etanol 96% yang mungkin kurang optimal dalam mengekstrak senyawa aktif secara

maksimal. Hal ini dapat memengaruhi konsentrasi senyawa antibakteri dalam ekstrak sehingga berkontribusi terhadap lemahnya hasil uji aktivitas antibakteri memakai metode difusi sumuran.

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 5%, 10%, 15%, 20%, menunjukkan zona hambat yang tergolong lemah, dengan diameter kurang dari 5 mm. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi tersebut belum cukup efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Rendahnya efektivitas ini diakibatkan oleh kandungan senyawa antibakteri dalam ekstrak Anggur laut yang masih terbatas, sehingga pada konsentrasi rendah, jumlah senyawa aktif yang tersedia tidak memadai untuk memberikan efek hambat yang optimal. Perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh variasi konsentrasi ekstrak Anggur Laut menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi dan efektivitas antibakteri. Hal ini diduga berkaitan dengan perbedaan kadar senyawa aktif yang terkandung dalam masing-masing konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula kandungan senyawa aktif yang dimilikinya, sehingga daya serap terhadap target mikroorganisme serta kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri menjadi lebih tinggi (Hafizah Q, Permatasari L, & Muchlishah N., 2024).

Dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20% terdapat peningkatan meskipun dalam kategori lemah, namun sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Luhulima, A., Niwele, A., & Kadimas, S. S., 2022 “uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi” hasil pengujian konsentrasi 20% rata-rata 24 mm, 40% rata-rata 26 mm, 60% rata-rata 29 mm, 80% rata-rata 32 mm kategori sangat kuat, terdapat peningkatan disetiap

konsentrasi karena konsentrasi yang digunakan tinggi maka dari itu hasil zona hambat yang didapatkan tinggi.

Hasil yang lemah pada metode sumuran mengindikasikan bahwa metode sumuran kurang efektif dalam mengukur potensi antibakteri dari sampel Anggur laut yang digunakan, kemungkinan disebabkan oleh keterbatasan difusi senyawa aktif ke dalam medium agar, selain itu sifat fisikokimia senyawa uji seperti kelarutan dan ukuran molekul dapat memengaruhi kemampuan difusi sehingga menghasilkan zona hambat yang tidak mencerminkan aktivitas antibakteri yang sebenarnya.

Bakteri *Streptococcus sp* menunjukkan tingkat resistensi terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak Anggur laut (*Caulerpa sp*), ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat kategori lemah pada semua konsentrasi yang diuji. Mengindikasikan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak Anggur laut tidak mempunyai kemampuan yang cukup untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus sp* secara efektif, resistensi ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif yang lebih tebal atau adanya mekanisme pertahanan spesifik dari *Streptococcus sp* terhadap senyawa bioaktif tersebut. Selain itu kandungan senyawa antibakteri dalam Anggur laut mungkin tidak memiliki afinitas atau target yang tepat untuk mengganggu proses vital bakteri ini.

Biofilm merupakan lapisan tipis yang terbentuk oleh koloni bakteri, yang memungkinkan mereka menempel pada permukaan tertentu dan memberikan perlindungan terhadap berbagai ancaman, termasuk zat antibakteri. Biofilm terdiri atas kumpulan mikroorganisme yang melekat pada suatu permukaan, seperti kateter, dan terbungkus dalam matriks kental yang terdiri dari campuran protein,

asam nukleat, serta polisakarida berbentuk gel. Struktur ini tidak hanya melindungi bakteri dari sistem imun inang, tetapi juga dari kondisi lingkungan yang ekstrem, seperti pH yang tidak stabil, kadar oksigen yang rendah, serta tekanan dan suhu tinggi. Sel-sel dalam biofilm juga memiliki kemampuan untuk melepaskan diri dan bergabung dengan matriks lain, menjadikan populasi bakteri dalam biofilm lebih sulit untuk dikendalikan dibandingkan dengan bakteri yang tidak membentuk biofilm (Kining, Falah, & Nurhidayat, 2016).

Efektivitas senyawa antimikroba menghambat pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh faktor, seperti pH substrat, usia bakteri, suhu, dan lama waktu inkubasi. Bakteri asam laktat, misalnya, memerlukan pH tertentu untuk menghasilkan zat antibakteri secara optimal. Ketika pH substrat menurun, konsentrasi ion H^+ meningkat dan menempel pada membran, sedangkan pada pH yang lebih tinggi, ion OH^- mendominasi dan juga berinteraksi dengan membran. Kondisi ini mengubah struktur aktif enzim, sehingga mempengaruhi permeabilitas membran dan menurunkan produksi senyawa antibakteri.

Usia bakteri juga berperan penting dalam produksi antimikroba. Bakteri yang belum mencapai umur optimal mungkin memiliki kemampuan yang lebih rendah dalam menyerap nutrisi, sehingga mengganggu kerja membran dan menghambat produksi antibakteri. Sebaliknya, pada usia yang sesuai, bakteri dapat menghasilkan senyawa antibakteri secara maksimal. Faktor suhu pun berpengaruh, di mana suhu yang ideal akan meningkatkan produksi antibakteri yang bisa diamati melalui besarnya zona hambat. Selain itu, durasi inkubasi juga penting; bakteri asam laktat, misalnya, memerlukan waktu inkubasi optimal sekitar 48 jam hingga

3 hari untuk menghasilkan antibakteri dalam jumlah yang signifikan (Pelczar dan Chan, 1986).