

PEMANFAATAN EKSTRAK *Gracillaria verrucosa* SEBAGAI AGENT
ANTIBAKTERI *Vibrio alginoliticus* dan *Vibrio anguillarum*

SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh :

HENY MILASARI M.

NIM. 0410810033



UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2009

PEMANFAATAN EKSTRAK *Gracillaria verrucosa* SEBAGAI AGENT
ANTIBAKTERI *Vibrio Alginoliticus* dan *Vibrio Anguillarum*

*Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana pada
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang*

OLEH :
HENY MILASARI M.
NIM. 0410810033

Dosen Penguji I

Ir. PUTUT WIDJANARKO, MS
NIP.
Tanggal :

Dosen Penguji II

ASUS MAIZAR S. SPi, MP
NIP.
Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. ENDANG YULI H., MS
NIP.
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Dr. UUN YANUHAR SPi, MS
NIP.
Tanggal :

Mengetahui
Ketua Jurusan

Ir. MAHENO SRI WIDODO
NIP. 131 471 522
Tanggal :

RINGKASAN

HENY MILASARI MULYONO. Skripsi Tentang **Pemanfaatan Ekstrak *Gracillaria verrucosa* Sebagai Agent Antibakteri *Vibrio alginoliticus* dan *Vibrio anguillarum*** (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Endang Yuli H, MSi dan Dr. Uun Yanuhar S.Pi, MSi**).

Alga hijau, alga merah ataupun alga coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi seperti sebagai anti bakteri, anti tumor, anti kanker dan industri agrokimia (Putra, 2006). Jenis-jenis rumput laut dari ketiga golongan tersebut mempunyai potensi ekonomis penting, karena kandungan senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme primer (Jasuda.net, 2008). *G.verrucosa* termasuk alga merah (Rhodophyta) yang berpotensi mengandung senyawa metabolit primer. Riset-riset terutama diperlukan untuk mencari bahan baku industri, senyawa bioaktif, pengembangan produk-produk turunan berbasis alga, dan mempelajari misteri dan keunikan-keunikan alga dalam hubungannya sebagai bagian dari ekosistem. Salah satu pengembangan dari pemanfaatan jenis alga merah *G.verrucosa* antara lain adalah penggunaan ekstrak-nya sebagai agent antibakteri, yaitu suatu zat yang mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri karena terdapat kandungan senyawa bioaktif terpenoid. Penyakit udang yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. masih menjadi fokus perhatian utama dalam produksi budidaya udang. *Vibrio alginoliticus* dan *Vibrio anguillarum* merupakan agen penyebab penyakit vibriosis yang menyerang hewan laut seperti ikan, udang, dan kerang-kerangan. Ekstrak *G.verrucosa* diduga bersifat antibakteri dan dapat mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio alginoliticus* dan *Vibrio anguillarum*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk untuk mengekstrak bahan aktif ekstrak alga merah *G.verrucosa* sebagai agent antibakteri. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode metode eksperimen yaitu yaitu mengadakan percobaan untuk melihat hasil. Hasil yang didapat akan menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel - variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Nazir, 1988). Penelitian ini menggunakan metode eksperimen, sedangkan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan masing-masing diulang konsentrasi 0%, 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50% untuk bakteri *Vibrio alginoliticus* dan konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50%.

Ekstraksi bahan aktif dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol menghasilkan ekstrak *G.verrucosa* yang diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Vibrio alginoliticus* dan *Vibrio anguillarum* dengan metode dilusi. Hasil uji dilusi menunjukkan ekstrak *G.verrucosa* bersifat bakteriostatik menghambat pertumbuhan *V.alginoliticus* pada konsentrasi 40% dan *V.anguillarum* pada konsentrasi 30% (MIC *V.alginoliticus* 40%;MIC *V.anguillarum* 30%). Ekstrak *G.verrucosa* bersifat bakterisidal membunuh bakteri *V.alginoliticus* pada konsentrasi 45% dan *V.anguillarum* pada konsentrasi 35%. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *G.verrucosa*, maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya zat antibakteri yang menghambat dan mematikan bakteri uji

seiring dengan meningkatnya konsentrasi dari setiap perlakuan. Jawetz dan Aldelbergs, (1982) menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan, maka kemampuan untuk membunuh bakteri semakin cepat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *G.verrucosa* dapat dikategorikan sebagai agent antibakteri dan bersifat antimikrobal.

Kemampuan ekstrak *G.verrucosa* sebagai senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri *Vibrio* adalah karena terdapatnya senyawa terpenoid. Simanjuntak (1995) menyatakan bahwa analisa kimia alga merah mengandung senyawa terpenoid, asetogenik maupun senyawa aromatik. Umumnya senyawa yang ditemukan pada alga merah bersifat anti mikroba, anti inflamasi, anti virus dan bersifat sitoksis. Terpen atau terpenoid aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa. Mekanisme kerja terpen belum diketahui dengan baik dan dispekulasi terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Indobic,2009). Mekanisme kerja antibakteri pada umumnya menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel, menggumpalkan protein bakteri sehingga terjadi hidrolisis dan difusi cairan sel yang disebabkan karena perbedaan tekanan osmose.



KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb,

Segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat, cinta kasih dan hidayahNya, Shalawat dan salam tercurah kepangkuan hamba Allah SWT terkasih Rasulullah SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian ini. Penulis berharap nantinya hasil penelitian ini dapat menjadi menjadi manfaat dan sumbangan pemikiran bagi kalangan akademis, instansi, maupun semua pihak yang membutuhkan. Penulis menyadari laporan penelitian ini masih belum sempurna, oleh karena itu saran dan kritik sangat diharapkan demi kesempurnaan laporan ini.

Atas terselesaikannya penelitian ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

- Ibu Dr. Ir. Endang Yuli H.,MS selaku Dosen Pembimbing I atas bimbingannya
- Ibu Dr. Ir. Uun Yanuhar Spi, Msi selaku Dosen Pembimbing II atas bimbingannya
- Bapak Ir. Putut Widjanarko MS selaku Penguji I
- Bapak Asus Maizar S. Spi, MP selaku Penguji II
- Ibu Ferida selaku pembimbing Lab. Farmakologi dan Bapak Slamet selaku pembimbing Lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unibraw yang sangat banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian
- Keluarga yang telah memberi dukungan moral dan materi
- Sahabat, teman dan rekan-rekan MSP '04 atas dukungannya
- Semua pihak yang telah membantu terlaksana dan terselesaikannya penelitian ini

Semoga semua yang telah diberikan kepada penulis di berkahi dan dibalas oleh Allah SWT. Amin, Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, April 2009

Penulis

DAFTAR ISI

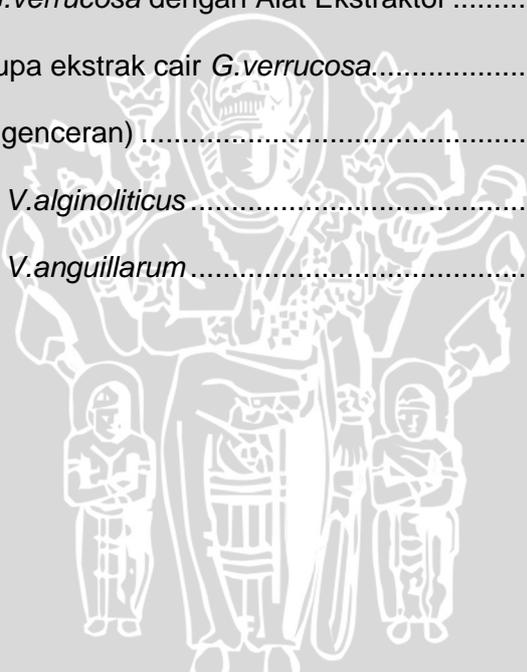
	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Kegunaan Penelitian.....	4
1.5. Hipotesa.....	4
1.6. Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Rumput Laut <i>Gracillaria verrucosa</i>	6
2.1.1. Morfologi dan Taksonomi <i>G. verrucosa</i>	7
2.1.2 Habitat dan Penyebaran <i>G. verrucosa</i>	7
2.1.3 Reproduksi <i>G. verrucosa</i>	7
2.1.4 Aspek Ekologi <i>G. verrucosa</i>	8
a. Suhu.....	8
b. Salinitas	8
c. pH	9
d. Nitrat (NO ₃ ⁻).....	9
e. Fosfat (PO ₄ ³⁻)	10
2.2 Kandungan dan Manfaat Rumput Laut <i>G. verrucosa</i>	10
2.3 Senyawa antimikroba/antibakteri <i>G. verrucosa</i>	12
2.4 Senyawa Terpenoid pada Ekstrak <i>G. verrucosa</i>	14
2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	17
2.6 Bakteri Uji <i>V. anguillarum</i> dan <i>V. alginoliticus</i>	18
2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Vibrio</i>	18
2.6.2 Klasifikasi <i>V. alginoliticus</i>	19
2.6.3 Klasifikasi <i>V. anguillarum</i>	20
2.6.4 Habitat dan Penyebaran	21
2.6.5 Pertumbuhan.....	22
2.6.6 Reproduksi.....	24
2.7 Ekstraksi <i>G. verrucosa</i>	25
2.8 <i>Dillution Test</i>	26
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	27
3.1.1 Bahan Penelitian.....	27
3.1.2 Alat Penelitian	27
3.2. Metode Penelitian	28
3.2.1 Data Primer.....	28
3.2.2 Data Sekunder	29
3.2.3 Prosedur pengambilan Sampel.....	29

a. Prosedur Pengambilan Sampel <i>G. verrucosa</i>	29
b. Pengambilan Sampel Air	29
3.2.4 Metode Ekstraksi Sampel.	30
3.2.5 <i>Dillution Test</i>	31
3.2.6 Parameter Penunjang Kualitas Air <i>G. verrucosa</i>	35
a. Suhu.....	35
b. pH	35
c. Salinitas.....	36
d. Nitrat	36
e. Fosfat.....	37
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1. Ekstraksi <i>G. verrucosa</i>	38
4.2 <i>Dillution Test</i>	41
4.3 Analisa Hasil Uji Bakteri <i>V. alginoliticus</i>	43
4.4 Analisa Hasil Uji Bakteri <i>V. anguillarum</i>	47
4.5. Aktifivitas Antibakteri Ekstrak <i>G. verrucosa</i> terhadap Bakteri Uji.....	51
4.6 Lingkungan Hidup Bakteri <i>V. alginoliticus</i> dan <i>V. anguillarum</i>	53
4.7 Parameter Kualitas Air <i>G. verrucosa</i>	54
4.7.1 Suhu.....	54
4.7.1 Salinitas	55
4.7.3 pH	55
4.7.4 DO.....	55
4.7.5 Nitrat.....	56
4.7.6 Fosfat.....	56
5. PENUTUP	57
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	62



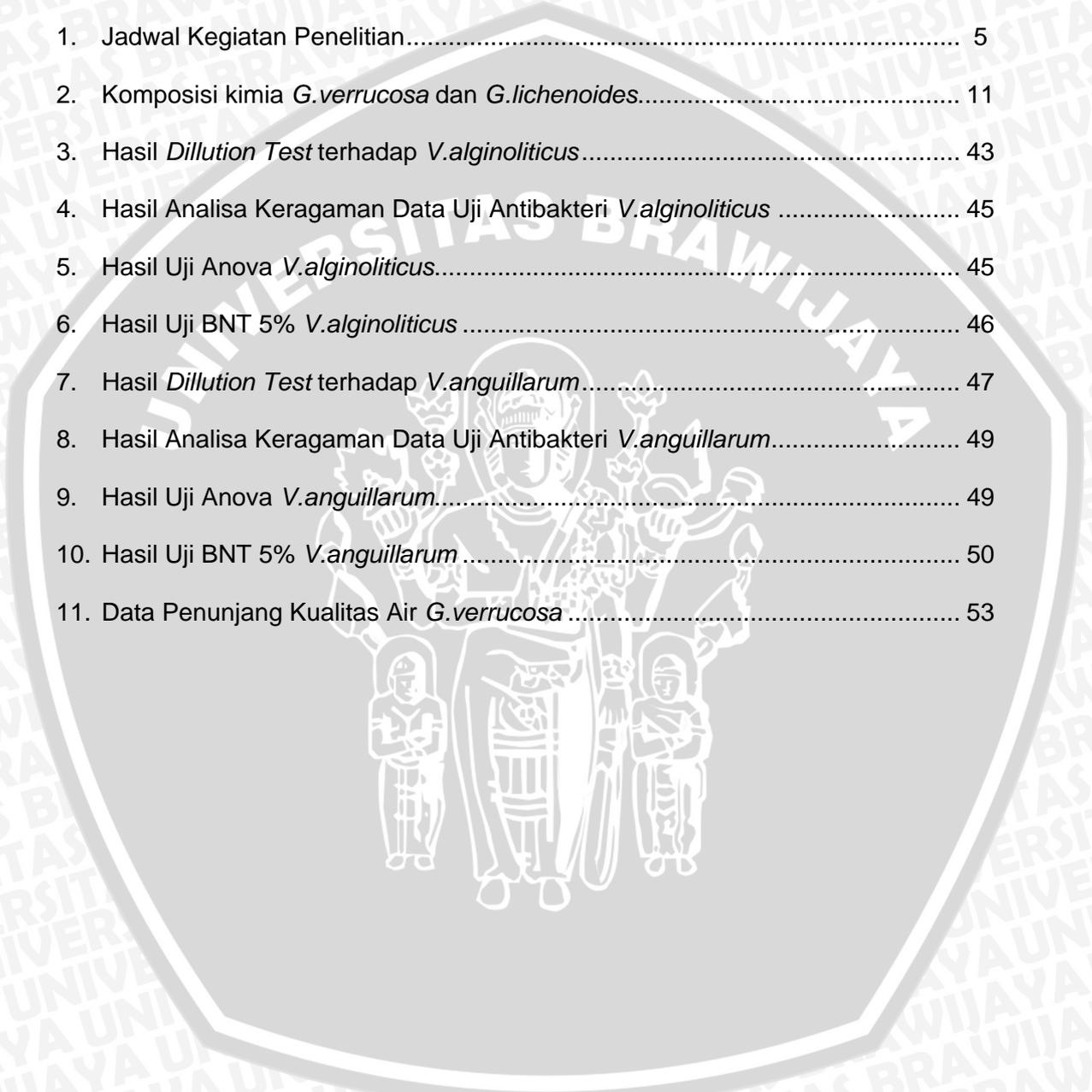
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Gracilaria verrucosa</i>	7
2. Mekanisme Biosintesa Terpenoid.....	15
3. Diagram Skematis Pembelahan Biner pada Bakteri.....	23
4. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	24
5. <i>G.verrucosa</i> setelah Tahap Pengeringan	39
6. Proses Ekstraksi <i>G.verrucosa</i> dengan Alat Ekstraktor	40
7. Hasil ekstraksi berupa ekstrak cair <i>G.verrucosa</i>	40
8. Metode Dilusi (Pengenceran)	42
9. Hasil <i>Dillution Test V.alginoliticus</i>	44
10. Hasil <i>Dillution Test V.anguillarum</i>	48



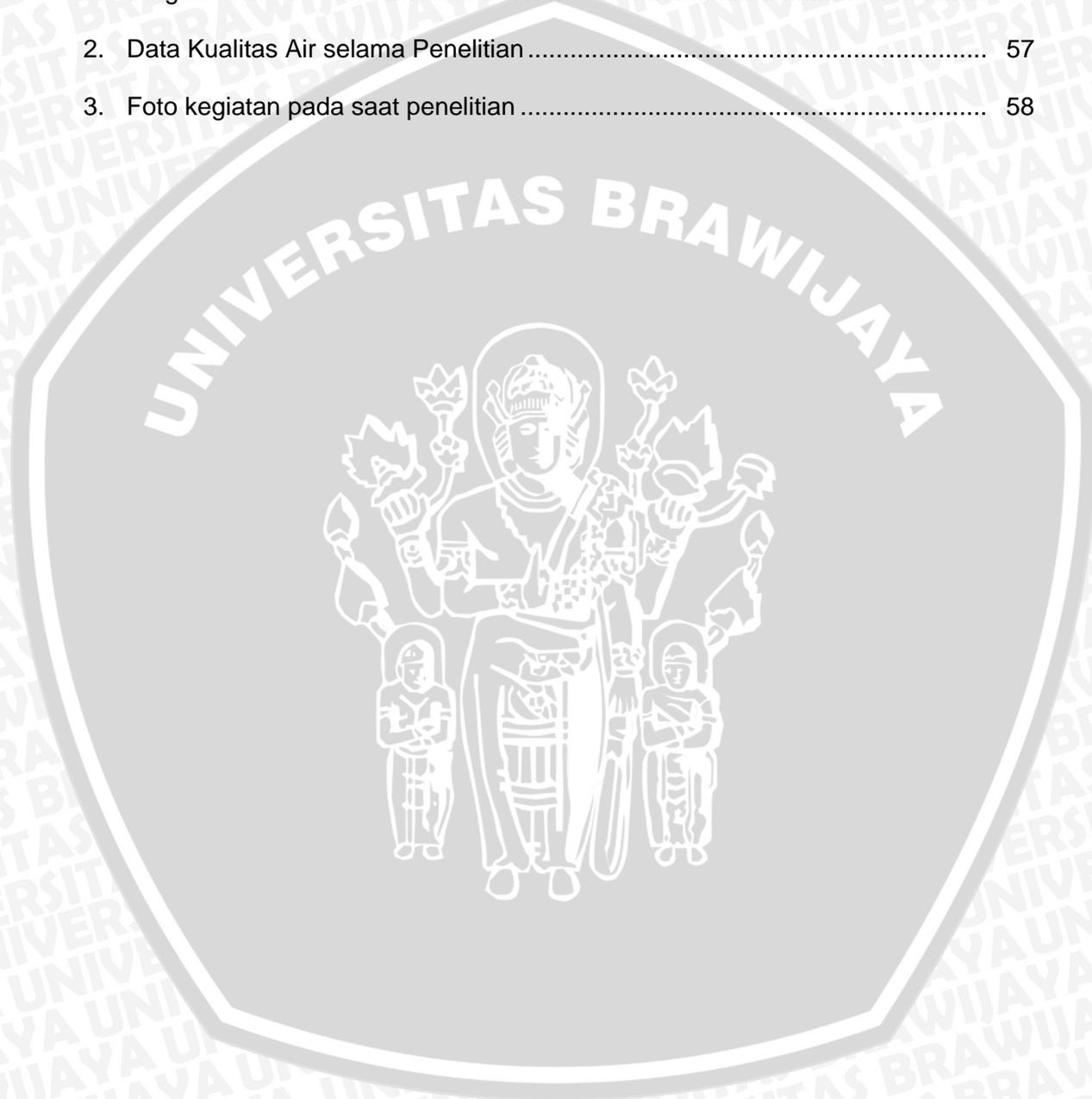
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jadwal Kegiatan Penelitian.....	5
2. Komposisi kimia <i>G.verrucosa</i> dan <i>G.lichenoides</i>	11
3. Hasil <i>Dillution Test</i> terhadap <i>V.alginoliticus</i>	43
4. Hasil Analisa Keragaman Data Uji Antibakteri <i>V.alginoliticus</i>	45
5. Hasil Uji Anova <i>V.alginoliticus</i>	45
6. Hasil Uji BNT 5% <i>V.alginoliticus</i>	46
7. Hasil <i>Dillution Test</i> terhadap <i>V.anguillarum</i>	47
8. Hasil Analisa Keragaman Data Uji Antibakteri <i>V.anguillarum</i>	49
9. Hasil Uji Anova <i>V.anguillarum</i>	49
10. Hasil Uji BNT 5% <i>V.anguillarum</i>	50
11. Data Penunjang Kualitas Air <i>G.verrucosa</i>	53



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Prosedur Ekstraksi <i>G.verrucosa</i>	54
2. Data Kualitas Air selama Penelitian	57
3. Foto kegiatan pada saat penelitian	58



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang mempunyai garis pantai terpanjang di dunia yaitu $\pm 80.791,42$ Km. Sepanjang garis pantai tersebut tumbuh dan berkembang berbagai jenis alga laut yang berpotensi sebagai biotarget industri. Salah satu potensi tersebut adalah rumput laut. (DKP, 2006) menyebutkan rumput laut (*seaweeds*) masuk kategori *macro algae*, tanaman sederhana yang tumbuh di air bergaram dan lingkungan laut. rumput laut dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu rumput hijau *Chlorophyta* ;rumput laut coklat (*Phaeophyta*; dan rumput laut merah (*Rhodophyta*).

Alga hijau, alga merah ataupun alga coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi pengembangan :

(1) industri farmasi seperti sebagai anti bakteri, anti tumor, anti kanker atau sebagai reversal agent (2) industri agrokimia terutama untuk antifeedant, fungisida dan herbisida (wikipedia.org, 2008).

Rumput laut mempunyai nilai ekonomis cukup tinggi, baik untuk konsumsi dalam negeri maupun sebagai komoditas ekspor. Rumput laut dapat digunakan untuk berbagai macam keperluan seperti: bahan makanan, obat-obatan, bahan kosmetika, dan lain-lain (Jasuda, 2008).

Pemanfaatan alga/rumput laut adalah sangat luas mulai dari sebagai bahan makanan bagi manusia; sebagai bahan obat-obatan (*anticoagulant*, *antibiotics*, *antihehmetes*, *antihypertensive agent*, pengurang kolesterol, *dilatory agent*, dan insektisida); sebagai bahan pakan organisme di laut; sebagai pupuk tanaman dan penyubur tanah; sebagai pengemas transportasi yang sangat baik untuk lobster dan clam hidup (khususnya dari jenis *Ascophyllum* dan *Fucus*), sebagai stabilizer larutan dan lain-lain.

Saat ini industri rumput laut sudah sangat berkembang dan spectrum penggunaannya sangat luas. Produk turunan dari rumput laut digunakan mulai dari industri tekstil, kertas, cat, kosmetika, bahan laboratorium, pasta gigi, es krim dan lain-lain (DKP, 2006)

Sejauh ini pemanfaatan alga sebagai komoditi perdagangan atau bahan baku industri masih relatif kecil jika dibandingkan dengan keanekaragaman jenis alga yang ada di Indonesia. Padahal komponen kimiawi yang terdapat dalam alga sangat bermanfaat bagi bahan baku industri makanan, kosmetik, farmasi dan lain-lain. Alga/rumput laut memiliki fungsi yang kompleks, diantaranya :

1) sebagai Biotarget Industri; 2) Sumber Makanan; 3) Adsorben Logam Berat; 4) Sumber Senyawa Alginat; 5) sebagai Pupuk Organik; 5) sebagai Sumber Senyawa Bioaktif (IPTEKnet, 2007).

Berdasarkan kandungan pigmen yang terdapat dalam thallus rumput laut, maka rumput laut dapat digolongkan menjadi rumput laut hijau, rumput laut merah, dan rumput laut coklat. Jenis-jenis rumput laut dari ketiga golongan tersebut mempunyai potensi ekonomis penting, karena kandungan senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme primer (Susanto, 2008).

Kemampuan alga untuk memproduksi metabolit sekunder terhalogenasi bersifat sebagai senyawa bioaktif dimungkinkan terjadi, karena kondisi lingkungan hidup alga yang ekstrem seperti salinitas yang tinggi atau akan digunakan untuk mempertahankan diri dari ancaman predator. Dalam dekade terakhir ini, berbagai variasi struktur senyawa bioaktif yang sangat unik dari isolat alga merah telah berhasil diisolasi. Namun pemanfaatan sumber bahan bioaktif dari alga saat ini belum banyak dilakukan. Berdasarkan proses biosintesisnya, alga laut kaya akan senyawa turunan dari oksidasi asam lemak yang disebut oxylipin. Senyawa ini menghasilkan berbagai jenis senyawa metabolit sekunder (Jasuda, 2008).

Jenis alga merah banyak digunakan sebagai obat tradisional di Cina. Analisa kimia menunjukkan bahwa alga tersebut mengandung senyawa terpenoid, asetogenik maupun senyawa aromatik. Umumnya senyawa yang ditemukan pada alga merah bersifat anti mikroba, anti inflamasi, anti virus dan bersifat sitoksis (Simanjuntak, 1995). Secara bioseintesis terpenoid diperoleh dari molekul isoprena, yaitu senyawa yang memang terdapat sebagai bahan alam. Senyawa terpenoid adalah senyawa hidrokarbon isometrik yang juga terdapat pada lemak/minyak esensial (*essential oils*), yaitu sejenis lemak yang sangat penting bagi tubuh. Zat zat terpenoid membantu tubuh dalam proses sintesa organik dan pemulihan sel-sel tubuh. Terpen atau terpenoid aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa.

Berbagai riset mutlak dilakukan untuk pemanfaatan secara optimal kekayaan hayati ini secara berkelanjutan. Riset-riset terutama diperlukan untuk mencari bahan baku industri, senyawa bioaktif, pengembangan produk-produk turunan berbasis alga, dan mempelajari misteri dan keunikan-keunikan alga dalam hubungannya sebagai bagian dari ekosistem. Salah satu pengembangan dari pemanfaatan jenis alga merah *Gracillaria verrucosa* antara lain adalah penggunaan ekstrak-nya sebagai antibakteri, yaitu suatu zat yang mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

G.verrucosa memiliki potensi senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi seperti sebagai antibakteri. Berdasarkan uraian tersebut dapat dirumuskan masalah, yakni :

1. Apakah ekstrak dari *G.verrucosa* dapat dijadikan sebagai agent antibakteri *V.alginoliticus* dan *V.anguillarum*.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengekstrak bahan aktif ekstrak alga merah *G.verrucosa* sebagai agent antibakteri.

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi

- 1) Akademis : pengembangan penelitian dan ilmu pengetahuan, serta kegunaan praktis
- 2) Bagi instansi-instansi yang terkait : dapat dimanfaatkan oleh pemerintah daerah, pengusaha dan petani untuk pengembangan usaha budidaya rumput laut, sebagai dasar pengembangan dan informasi untuk penelitian pemanfaatan rumput laut selanjutnya.

1.5 Hipotesa

H0 : Diduga penggunaan ekstrak sponge *G.verrucosa* dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri *V.alginoliticus* dan *V.anguillarum*.

H1 : Diduga penggunaan ekstrak sponge *G.verrucosa* dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri *V.alginoliticus* dan *V.anguillarum*

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di BBAPS Pulokerto kec. Kraton Kab. Pasuruan Jawa Timur. Analisa dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Ilmu-Ilmu Perairan serta Laboratorium Bioteknologi Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya.

Berikut jadwal kegiatan penelitian dalam Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Tabel Jadwal Kegiatan Penelitian

Jenis kegiatan		Bulan											
		Mei				Juni				Juli			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Tahap Persiapan	Penyusunan Proposal	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	Persiapan alat dan bahan												
	Pembuatan pereaksi kimia yang digunakan untuk pengukuran analisa kualitas air					■							
Tahap Pelaksanaan	Pengamatan laboratorium dan ekstraksi									■			
	Pengujian ekstrak sebagai anti bakteri <i>V.alginoliticus</i> dan <i>V.anguillarum</i>												
	Pengolahan data dan hasil												
Tahap penyusunan laporan	Penyusunan laporan Skripsi												

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *G. verrucosa*

2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi

G. verrucosa adalah rumput laut yang termasuk pada kelas alga merah (*Rhodophyta*). Algae jenis *Gracilaria* termasuk kelompok penghasil agar-agar (*agarophyt*). Ciri-ciri *G. verrucosa* antara lain mempunyai thallus silindris, licin, dan berwarna kuning-cokelat atau kuning-hijau. Percabangan berselang tidak beraturan. Cabang lateral memanjang menyerupai rambut, ukuran panjang sekitar 25 cm dengan diameter thallus 0,5-1,5 mm. Seperti umumnya pada alga jenis lain, morfologi rumput laut jenis *Gracilaria* disebut thallus (jamak: thalli), yaitu tidak memiliki perbedaan nyata antara akar, batang dan daunnya (Anggadiredja, dkk, 2006).

Klasifikasi dari *Gracillaria verrucosa* adalah sebagai berikut (Algaebase.org) :

Divisi : Rhodophyta

Klas : Rhodophyceae

Ordo : Bangiales

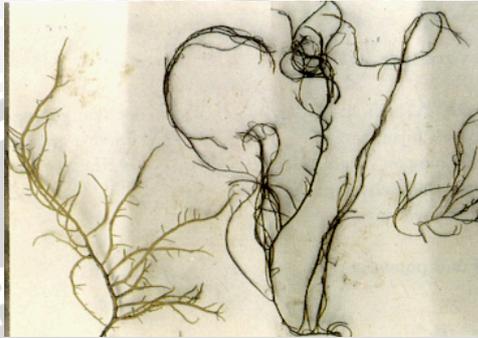
Famili : Bangiaceae

Genus : *Gracilaria*

Species : *Gracilaria verrucosa*

Gambaran morfologis tentang *G.verrucosa* seperti pada Gambar 1. yaitu morfologi rumput laut *Gracilaria* tidak memiliki perbedaan antara akar, batang dan daun. Tanaman ini berbentuk batang yang disebut dengan thallus (jamak: thalli) dengan berbagai bentuk percabangannya. *Thalli* berbentuk silindris atau gepeng dengan percabangan, mulai dari yang sederhana sampai pada yang rumit dan rimbun. Diatas percabangan umumnya bentuk *thalli* agak mengecil.

Warna *thalli* beragam, mulai dari warna hijau-coklat, merah, pirang, merah coklat dan sebagainya. Pigmennya berwarna merah (Aslan, 1998)



Gambar 1. *G.verrucosa* (Jasuda.net, 2008)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

G.verrucosa tumbuh melekat pada substrat karang di terumbu karang berarus sedang, di samping juga dapat tumbuh di sekitar muara sungai. Jenis ini sudah dapat dibudidayakan di tambak, dengan salinitas ideal 20-28 per mil (Anggadiredja, dkk, 2006). Aslan (1998) menyebutkan bahwa pertumbuhan *G.verrucosa* umumnya lebih baik di tempat dangkal daripada di tempat dalam. Substrat tempat melekatnya dapat berupa batu, pasir, lumpur, kebanyakan lebih menyukai intensitas cahaya yang lebih tinggi.

2.1.3 Reproduksi

Perkembangbiakannya dilakukan dengan 2 cara (IPTEKnet, 2007) yaitu secara kawin antara gamet jantan dan gamet betina (generatif) serta tidak kawin melalui vegetatif, konjugatif dan penyebaran spora yang terdapat pada kantong spora (carpospora, cystocarp).

2.1.4 Aspek Ekologi

Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan rumput laut *G.verrucosa* antara lain adalah sebagai berikut :

a. Suhu

Suhu merupakan faktor lingkungan terpenting karena suhu sangat berpengaruh terhadap perubahan fisika-kimia air maupun biota-biota yang hidup di dalamnya. Suhu bisa mempengaruhi semua organisme dalam perairan terutama dalam metabolisme, reproduksi, nafsu makan, dan pertumbuhan (Subarijanti, 2000). Suhu perairan mempengaruhi laju fotosintesis. Nilai suhu perairan yang optimal untuk laju fotosintesis berbeda pada setiap jenis. Secara prinsip suhu yang tinggi dapat menyebabkan protein mengalami denaturasi, serta dapat merusak enzim dan membran sel yang bersifat labil terhadap suhu yang tinggi. Pada suhu yang rendah, protein dan lemak membran dapat mengalami kerusakan sebagai akibat terbentuknya kristal di dalam sel. Terkait dengan itu, maka suhu sangat mempengaruhi beberapa hal yang terkait dengan kehidupan rumput laut, seperti kehilangan hidup, pertumbuhan dan perkembangan, reproduksi, fotosintesis dan respirasi (Eidman 1991). Menurut Anggadiredja, et al. (2006) suhu perairan yang baik untuk pertumbuhan *Gracilaria* berkisar 20-28°C.

b. Salinitas

Secara ideal salinitas merupakan jumlah dari seluruh garam-garaman dalam gram pada setiap kilogram air laut (Aziz,1992). Trono (1996) sebagian besar spesies *Gracilaria* bersifat eurihalyn dan kisaran salinitas optimalnya adalah 15-24 ppt. Salinitas meningkat saat musim panas hingga dapat mencapai 30 ppt dan menurun sampai 8 ppt saat musim hujan. Oleh karena itu untuk mendapatkan salinitas yang optimal diperlukan sumber air tawar maupun air laut.

c. pH perairan

Suatu ukuran dari konsentrasi ion hidrogen adalah pH yang menunjukkan suasana air tersebut, apakah bereaksi asam atau basa. Skala pH mempunyai deret 0 - 14 dan pH dibawah angka 7 berarti air bersifat asam sedangkan pH lebih dari 7 bersifat basa. Keasaman atau derajat pH merupakan salah satu faktor penting dalam kehidupan alga laut, sama halnya dengan faktor-faktor lainnya. Penyebab utama perubahan pH perairan adalah karbon dioksida, yang dalam sistem biologis merupakan produk dari respirasi (Cordova, 2007). Aslan (1998) menyatakan bahwa kisaran pH maksimum untuk kehidupan organisme laut adalah 6,5 - 8,5. Adapun menurut Anggadiredja, *et al.* (2006) kisaran pH maksimum untuk pertumbuhan *Gracilaria* adalah 6 – 9.

d. Nitrat (NO_3^-)

Nitrat (NO_3^-) adalah bentuk utama nitrogen diperairan alami dan merupakan nutrien utama bagi pertumbuhan tanaman dan alga. Sebagian besar nitrogen dalam bentuk nitrat dan nitrit merupakan bentuk senyawa yang paling siap digunakan tanaman hijau (Odum, 1993). Diperairan, nitrogen terdapat dalam bentuk nitrogen anorganik dan organik, dimana nitrogen anorganik terdiri dari ammonia (NH_3), ammonium (NH_4), nitrit (NO_2), nitrat (NO_3) dan nitrogen dalam bentuk gas (N_2). Sedangkan nitrogen organik berupa protein, asam amino dan urea. Sumber nitrogen yang dapat dimanfaatkan secara langsung oleh tumbuhan akuatik adalah nitrat (NO_3), ammonium (NH_4), gas nitrogen (N_2). Sebelumnya nitrogen ini mengalami proses nitrifikasi yang merupakan proses oksidasi ammonia menjadi nitrit dan nitrat yang berlangsung dalam kondisi aerob (Effendi, 2003).

f. Fosfat (PO_4^{3-})

Fosfat di perairan tidak ditemukan dalam bentuk bebas sebagai elemen, melainkan dalam bentuk senyawa anorganik yang terlarut (ortofosfat dan polifosfat) dan senyawa organik yang berupa partikulat. Fosfat merupakan bentuk fosfor yang dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan (Ducan, 1972 dalam Effendi, 2003). Fosfat merupakan unsur yang esensial bagi tumbuhan tingkat tinggi dan alga, sehingga unsur ini menjadi faktor pembatas bagi tumbuhan dan alga akuatik serta sangat mempengaruhi tingkat produktifitas perairan.

Ortofosfat merupakan bentuk fosfor yang dapat dimanfaatkan secara langsung oleh tumbuhan akuatik, sedangkan polifosfat harus mengalami hidrolisis membentuk ortofosfat terlebih dahulu, sebelum dapat dimanfaatkan sebagai sumber fosfor. Di perairan, bentuk fosfor berubah secara terus menerus akibat proses dekomposisi dan salinitas antara bentuk organik dan anorganik yang dilakukan oleh mikroba (Effendi, 2003).

2.2 Kandungan dan Manfaat Rumput Laut *G. verrucosa*

Beberapa jenis rumput laut juga mengandung protein yang cukup tinggi. Analisis kandungan asam amino dari *G.verucosa* mengandung asam amino esensial lengkap dan jumlahnya relatif lebih tinggi dibandingkan provisional pattern asam amino yang ditetapkan oleh FAO/WHO. Dengan demikian, protein yang larut dalam alkali (*alkali soluble protein*) memiliki kualitas yang baik (Anggadiredja, dkk, 2006). Hal ini didukung oleh Departemen Kelautan dan Perikanan, 2006 bahwa kandungan rumput laut umumnya adalah mineral esensial (*besi, iodin, aluminum, mangan, calsium, nitrogen dapat larut, phosphor, sulfur, chlor. silicon, rubidium, strontium, barium, titanium, cobalt, boron, copper, kalium*, dan unsur-unsur lainnya yang dapat dilacak), protein, tepung, gula dan vitamin A, B, C, D. Persentase kandungan zat-zat tersebut bervariasi tergantung

dari jenisnya. Komposisi kimia *G. verrucosa* dan *G. lichenoides* per 100 gram bahan disajikan dalam Tabel 2 berikut ;

Tabel .2 Komposisi kimia *G. verrucosa* dan *G. lichenoides*

Jenis komponen	Jumlah (%)	
	<i>G. lichenoides</i>	<i>G. verrucosa</i>
Air	13,85	11,60
Protein kasar	22,20	25,35
Karbohidrat	39,25	43,10
Lemak	01,20	01,05
Serat	08,20	07,50
Abu	15,30	11,40

Sumber : Anggadiredja, dkk (2006)

Pemanfaatan rumput laut adalah sangat luas mulai dari sebagai bahan makanan bagi manusia; sebagai bahan obat-obatan (*anticoagulant, antibiotics, antihehmetes, antihypertensive agent*, pengurang *cholesterol, dilatory agent*, dan insektisida); sebagai bahan pakan organisme di laut; sebagai pupuk tanaman dan penyubur tanah; sebagai stabilizer larutan dan lain-lain. Saat ini pohon industri rumput laut sudah sangat berkembang dan spectrum penggunaannya sangat luas. (Koran Nias, 2006).

Rumput laut dikenal sebagai sumber makanan, adsorben logam berat, sebagai pupuk organik sumber senyawa alginat, dan sumber senyawa bioaktif. Selain mengandung alginat, juga mempunyai iodium, protein, vitamin C dan mineral seperti Ca, K, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, S, P, dan Mn, dan dapat digunakan sebagai obat gondok dan kelenjar lainnya, anti tumor, memiliki potensi bersifat sebagai anti bakteri (IPTEKnet, 2007).

2.3 Senyawa Aktif Antibakteri/Antimikrobia *G. verrucosa*

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Apabila zat tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri disebut antibakteri (Pelczar *et al*, 1977).

Antibakteri adalah suatu zat yang mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Antibakteri adalah zat yang membunuh bakteri atau menekan pertumbuhan atau reproduksi mereka. Oleh karena itu, kelompok obat ini hanya berguna untuk mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Saat ini antibakteri biasanya dijabarkan sebagai suatu zat yang digunakan untuk membersihkan permukaan dan menghilangkan bakteri yang berpotensi membahayakan. *Antibakteri* dapat dibagi dalam dua kelompok berdasarkan kemampuan zat tersebut untuk membersihkan bakteri dan residu yang dihasilkan: Kelompok pertama adalah zat yang dapat bekerja secara cepat untuk membasmi bakteri, namun dapat hilang dengan cepat (dengan cara penguapan atau dengan cara penguraian) dan tidak meninggalkan residu aktif (dikenal sebagai zat yang tidak-menghasilkan-residu). Contoh zat-zat seperti ini adalah alkohol, klorin, peroksida, dan aldehid. Kelompok kedua adalah zat yang memiliki unsur-unsur jenis baru yang meninggalkan residu dalam jangka panjang di permukaan sehingga dapat membasmi kuman dalam jangka panjang dan tindakan pembasmian kuman dapat dilakukan dalam jangka panjang (dikenal sebagai zat yang menimbulkan-residu). Semua produk yang mengklaim dapat membunuh bakteri atau virus adalah sejenis zat antibakteri (APUA, 2007).

Rumput laut mengandung komponen unik yang kuat berupa fucoidan, alginates, dan polifenol. Fucoidan adalah polisakarida kompleks pada dinding sel rumput laut. Berbagai penelitian modern membuktikan, fucoidan yang merupakan komponen terbesar di dalam tumbuhan laut. Fucoidan mampu meningkatkan imunitas dengan merangsang produksi sel-sel imun, juga

membantu melawan virus dan bakteri, melawan alergi dan menghambat penggumpalan darah, sehingga memperkecil risiko stroke dan serangan jantung.

Selain mengandung polisakarida, rumput laut mengandung mineral dan senyawa bioaktif yang dibutuhkan oleh manusia. Ekstrak dari beberapa jenis rumput laut menunjukkan aktivitas farmakologi sebagai antimetrazol, hypotensive, sedative, cholinergic, ionotropic, antiinflamatory, anticonvulsant, hyperreflexia, oxidative metabolism inhibitor, dan bersifat toksik (Yunizal, 2004).

Kemampuan alga untuk memproduksi metabolit sekunder terhalogenasi yang bersifat sebagai senyawa bioaktif dimungkinkan terjadi, karena kondisi lingkungan hidup alga yang ekstrem seperti salinitas yang tinggi atau akan digunakan untuk mempertahankan diri dari ancaman predator. Dalam dekade terakhir ini, berbagai variasi struktur senyawa bioaktif yang sangat unik dari isolat alga merah telah berhasil diisolasi. Namun pemanfaatan sumber bahan bioaktif dari alga belum banyak dilakukan. Berdasarkan proses biosintesisnya, alga laut kaya akan senyawa turunan dari oksidasi asam lemak yang disebut oxylipin. Melalui senyawa ini berbagai jenis senyawa metabolit sekunder diproduksi. (Jasuda, 2008).

Metabolit sekunder dikelompokkan meliputi (Wikipedia.org, 2008) :

- 1) Alkaloid (Antibiotika Atropin, kinin, kinidin, nikotin, reserpin, teofilindigoksin)
- 2) Glikosida (digoksin, arbutin, krisofanol)
- 3) Flavonoid (kamperol, rutin)
- 4) Steroid (kolesterol, stigmasterol)
- 5) Terpenoid (eugenol, eukaliptol)
- 6) Antibiotika (streptomisin, tetrasiklin, spiramisin)

Selain mengandung polisakarida, rumput laut mengandung mineral dan senyawa bioaktif yang dibutuhkan oleh manusia. Ekstrak dari beberapa jenis

rumpun laut menunjukkan aktivitas farmakologi sebagai antimetabolit, hypotensive, sedative, cholinergic, ionotropic, antiinflammatory, anticonvulsant, hyperreflexia, oxidative metabolism inhibitor, dan bersifat toksik (Jasuda, 2008).

2.4 Senyawa Terpenoid Pada Ekstrak *G. verrucosa*

Simanjuntak (1995) menyatakan bahwa analisa kimia menunjukkan bahwa alga merah mengandung senyawa terpenoid, asetogenik maupun senyawa aromatik. Umumnya senyawa yang ditemukan pada alga merah bersifat anti mikroba, anti inflamasi, anti virus dan bersifat sitotoksik.

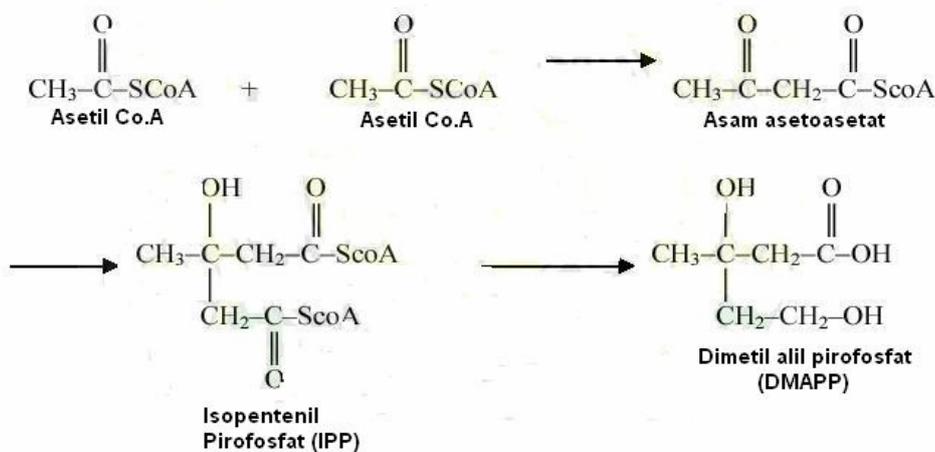
Terpenoida adalah merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati (Lenny, 2006). Terpene merupakan suatu golongan hidrokarbon yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan dan terutama terkandung pada getah dan vakuola selnya. Pada tumbuhan, senyawa-senyawa golongan terpene dan modifikasinya, terpenoid, merupakan metabolit sekunder. Terpene dan terpenoid dihasilkan pula oleh sejumlah hewan, terutama serangga dan beberapa hewan laut. Di samping sebagai metabolit sekunder, terpene merupakan kerangka penyusun sejumlah senyawa penting bagi makhluk hidup. Sebagai contoh, senyawa-senyawa steroid adalah turunan skualena, suatu triterpena; juga karoten dan retinol. Nama "terpene" (terpene) diambil dari produk getah tusam, terpentin (turpentine).

Senyawa ini seringkali dinamakan isoprenoid walaupun isoprene bukan merupakan precursor biologis struktur bervariasi. berasal dari fusi berulang dari cabang 5C dari unit struktur isopentenil monomer disebut sebagai unit isopren (ITB.ac.id, 2005). Sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh 2 atau lebih unit C-5 yang disebut unit isopren. Unit C-5 ini dinamakan demikian karena kerangka karbonnya seperti senyawa isopren. Klasifikasi terpenoid ditentukan dari unit isopren atau unit C-5 penyusun senyawa

tersebut. Secara umum biosintesa dari terpenoid dengan terjadinya 3 reaksi dasar yaitu :

1. Pembentukan isopren aktif dari asam asetat melalui asam mevalonat
2. Penggabungan dua kepala dan ekor unit isopren akan membentuk mono-, seskui-, di-, sester-, dan politerpenoid.
3. Penggabungan ekor dan ekor dari unit C-15 atau C-20 menghasilkan triterpenoid dan steroid.

Mekanisme dari tahap-tahap biosintesa terpenoid adalah asam asetat setelah diaktifkan oleh koenzim A melakukan kondensasi jenis Claisen menghasilkan asam asetoasetat. Senyawa yang dihasilkan ini dengan asetil koenzim A melakukan kondensasi jenis aldol menghasilkan rantai karbon bercabang sebagaimana ditemukan pada asam mevalinat. Reaksi-reaksi berikutnya adalah fosforilasi, eliminasi asam fosfat, dan dekarboksiliasi menghasilkan Isopentenil pirofosfat (IPP) yang selanjutnya berisomerisasi menjadi Dimetil alil pirofosfat (DMAPP) oleh enzim isomerase. IPP sebagai unit isopren aktif bergabung secara kepala ke ekor dengan DMAPP dan penggabungan ini merupakan langkah pertama dari polimerisasi isopren untuk menghasilkan terpenoid (Lenny, 2006).



Gambar 2. Mekanisme biosintesa terpenoid (Lenny, 2006)



Senyawa terpenoid adalah senyawa hidrokarbon isometrik yang juga terdapat pada lemak/minyak esensial (*essential oils*), yaitu sejenis lemak yang sangat penting bagi tubuh. Zat-zat terpenoid membantu tubuh dalam proses sintesa organik dan pemulihan sel-sel tubuh. Terpenoid disebut juga isoprenoid. Hal ini dapat dimengerti karena kerangka penyusun terpena dan terpenoid adalah isoprena (C_5H_8). Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Biasanya terpenoid diestraksi dari jaringan tumbuhan dengan memakai etanol (deherba.com).

Terpenoid merupakan senyawa yang paling banyak tersebar diantara bahan-bahan alami. Pada organisme laut senyawa ini dilaporkan telah diperoleh dari alga, coelenterate, moluska dan sponge. Terpenes merupakan derivat biosintetis dari unit isoprene yang memiliki rumus molekul C_5H_8 . Rumus molekul dasar dari terpenes adalah $(C_5H_8)_n$ dimana n merupakan jumlah unit isoprene. Senyawa terpenes dapat diklasifikasikan berdasarkan ukuran yaitu hemiterpenes, monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sesterterpenes, triterpenes, and tetraterpenes.

Berdasarkan jumlah unit isoterpena yang dikandungnya, senyawa terpenoid dibagi atas : 1) Monoterpen / dua unit isoprena 2) Sekiterpen / tiga unit isoprena 3) Diterpen / empat unit isoprena 4) Triterpena / lima unit isoprena 5) Tetraterpen / delapan unit isoprena 6) Politerpena/ banyak unit isoprena. Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa terpenoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid (-) hardwicklic acid, phytol, triterpenoid saponin dan triterpenoid glikosida.

2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba

Mekanisme kerja antimikrobal pada umumnya menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel, menggumpalkan protein bakteri sehingga terjadi hidrolisis dan difusi cairan sel yang disebabkan karena perbedaan tekanan osmose (Parenrengi *et al*, 2002). Menurut Winarsih (2003), obat antimikroba menghambat pembentukan dinding sel efektif pada saat bakteri sedang aktif membelah.

Menurut Pelezar dan Chan (1988), cara kerja zat antimikrobal yaitu:

- Kerusakan pada dinding sel
Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.
- Perubahan permeabilitas sel
Merusak membran yang berfungsi memelihara integritas komponen-komponen seluler sehingga mengakibatkan terhambatnya sel dan matinya sel.
- Perubahan molekul protein dan asam nukleat
Mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi), ireversibel (tidak dapat balik) komponen-komponen selular yang vital.
- Penghambatan kerja enzim
Penghambatan kerja enzim dilakukan dengan mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme dan matinya sel.
- Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein
Menggangu pembentukan atau fungsi zat-zat seperti DNA, RNA dan protein sehingga mengakibatkan kerusakan total pada sel.

2.6 Bakteri Uji *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio anguillarum*

2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi *Vibrio*

Bakteri *Vibrio* merupakan genus yang dominan pada lingkungan air payau dan estuaria. Umumnya bakteri *Vibrio* menyebabkan penyakit pada hewan perairan laut dan payau. Sejumlah spesies *Vibrio* yang dikenal sebagai patogen seperti *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. harveyii*, *V. ordalii* dan *V. vulnificus*. *Vibrio* sp. menyerang lebih dari 40 spesies ikan di 16 negara. *Vibrio* sp. mempunyai sifat gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma) atau lurus, berukuran panjang (1,4 – 5,0) μm dan lebar (0,3 – 1,3) μm , motil, dan mempunyai flagella polar (Feliatra, 1999).

Bakteri Gram-negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan Gram. Bakteri gram-positif akan mempertahankan zat warna metil ungu gelap setelah dicuci dengan alkohol, sementara bakteri gram-negatif tidak. Bakteri *Vibrio* adalah gram negatif yang memiliki ciri-ciri antara lain pada dinding sel nya lapisan peptidoglikan lebih tipis dari gram positif, kadar lipidnya lebih besar dari gram positif yaitu 11-22%, resistensi terhadap alkali (1% KOH) larut, kepekaan terhadap yodium kurang peka, toksin yang dibentuk berupa endotoksin, resistensi terhadap tellurit lebih peka, tidak ada yang tahan asam, kurang peka terhadap penisilin, peka terhadap streptomisin (Filzahazny, 2008).

Vibrio merupakan bakteri patogen oportunistik, artinya dalam kondisi udang tidak sehat maka bakteri ini akan berubah menjadi patogen (Rukyani, Taufik dan Taukhid, 1992). Ditambahkan pula oleh Winarsih, Dzen dan Santoso (2003), bakteri ini bergerak aktif dengan flagella polar dan memberikan uji oksidase yang positif. Karakteristik spesies *Vibrio* berpendar. Bakteri *Vibrio* berpendar termasuk bakteri anaerobic fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Sifat biokimia *Vibrio* adalah oksidase positif, fermentatif terhadap glukosa.

Bakteri *Vibrio* sp. adalah jenis bakteri yang dapat hidup pada salinitas yang relatif tinggi. Sebagian besar bakteri berpendar bersifat halofil yang tumbuh optimal pada air laut bersalinitas 20-40‰. Bakteri *Vibrio* tumbuh pada pH 4 - 9 dan tumbuh optimal pada pH 6,5 - 8,5 atau kondisi alkali dengan pH 9,0 (Baumann et al., 1984).

Prajitno (2005) menyatakan bahwa pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C akan mati. Bakteri *Vibrio* termasuk jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi, secara optimum pada salinitas 20-30 ppt. Bakteri dapat tumbuh baik pada kondisi alkali pH optimum 7,5-8,5. Pada umumnya bakteri *Vibrio* tumbuh secara optimal pada suhu berkisar dari 18 sampai 37 °C (Pelczar dan Chan, 1988). Lightner (1992) dalam Prajitno *et al.* (1998), pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tersebut tidak tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati dan kisaran salinitas yang baik untuk dapat berkembang yaitu antara 20-35 ppt. Serta pH optimumnya untuk dapat tumbuh berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman dan Lee, 1984).

Vibrio ditemukan di habitat-habitat aquatik dengan kisaran salinitas yang luas. Umumnya ditemukan di lingkungan estuarin dan laut serta terdapat pada permukaan intestinal hewan laut sedangkan beberapa spesies ditemukan di air tawar (Bauman dan Lee, 1984). Bakteri *vibrio* dapat mengakibatkan penyakit vibriosis. Tiga spesies bakteri *vibrio* yang ditemukan menyerang ikan kerapu adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. Parahaemolyticus*, dan *V. Harveyi* (Kordi, 2001). Bakteri dari spesies *Vibrio* secara langsung akan menimbulkan penyakit (pathogen), yang dapat menyebabkan kematian biota laut yang menghuni perairan, dan secara tidak langsung bakteri yang terbawa biota laut seperti ikan akan dikonsumsi oleh manusia, sehingga menyebabkan penyakit pada manusia.

2.6.2 Klasifikasi *Vibrio alginoliticus*

V. alginolyticus dicirikan dengan pertumbuhannya yang bersifat swarm pada media padat non selektif. Ciri lain adalah gram negatif, motil, bentuk batang, fermentasi glukosa, laktosa, sukrosa dan maltose. Bakteri ini merupakan jenis bakteri yang paling patogen pada ikan kerapu dibandingkan jenis bakteri lainnya. Sifat lain yang tidak kalah penting adalah sifat proteolitik yang berkaitan dengan mekanisme infeksi bakteri. Bakteri ini berwarna kuning dengan diameter 3-5 mm. Karakteristik fisika-biokimia adalah pewarnaan gram negatif, dan mempunyai sifat fermentatif, katalase, oksidase, methyl red, H₂S glukosa, laktosa, dan manitol positif. Sedangkan sellobiosa, fruktosa, galaktosa negatif (Feliatra, 1999). Ditambahkan pula oleh Winarsih *et al.* (2003), bakteri ini bergerak aktif dengan flagella polar.

Klasifikasi bakteri *V.alginoliticus* adalah sebagai berikut (wikipedia.org, 2008)

Filum	: Bacteria
Classis	: Proteobacteria
Divisio	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: Vibrio
Spesies	: <i>Vibrio alginoliticus</i>

(wikipedia.org, 2008)

2.6.3 Klasifikasi *Vibrio anguillarum*

Dibandingkan dengan *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio anguillarum* merupakan spesies yang kurang patogen terhadap ikan air payau. Pada uji patogenisitas ikan kerapu tikus ukuran 5 gram yang diinfeksi bakteri dengan kepadatan tinggi

hingga 10^8 CFU/ikan hanya mengakibatkan mortalitas 20%. Diagnosis penyakit dapat dilakukan dengan melakukan isolasi dan identifikasi bakteri. Penumbuhan bakteri pada media selektif TCBS akan didapatkan koloni yang kekuningan dengan ukuran yang hampir sama dengan koloni *Vibrio alginolyticus* akan tetapi bakteri ini tidak tumbuh swarm pada media padat non-selektif seperti NA.

V.anguillarum mempunyai ciri-ciri warna putih kekuning-kuningan, bulat, menonjol dan berkilau. Karakteristik fisika-biokimia adalah pewarnaan gram negatif, dan mempunyai sifat fermentatif, katalase, oksidase, glukosa, laktosa, sellobiosa, galaktosa dan manitol positif. Sedangkan methyl red dan H_2S negatif. biokimia adalah pewarnaan gram negatif, dan mempunyai sifat fermentatif, katalase, oksidase, methyl red dan H_2S glukosa, sellobiosa, fruktosa, galaktosa dan manitol positif. Sedangkan, laktosa bersifat negatif (Feliatra,1999).

Klasifikasi taksonomi bakteri *V.alginoliticus* adalah sebagai berikut (wikipedia.org, 2008)

Filum	: Bacteria
Classis	: Proteobacteria
Divisio	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Familia	: Vibrionaceae
Genus	: Vibrio
Spesies	: <i>Vibrio anguillarum</i>

(wikipedia.org, 2008)

2.6.4 Habitat dan Penyebaran

Vibrio ditemukan di habitat-habitat aquatik dengan kisaran salinitas yang luas. Umumnya ditemukan di lingkungan estuarin dan laut serta terdapat pada

permukaan intestinal hewan laut sedangkan beberapa spesies ditemukan di air tawar (Bauman dan Lee, 1984). Prajitno (2005), menyatakan bahwa pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati. Bakteri *Vibrio* termasuk jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi, secara optimum pada salinitas 20-30 ppt. Bakteri dapat tumbuh baik pada kondisi alkali pH optimum 7,5-8,5.

Hasil survei tahun 1992-1997 sepanjang pantai utara Jawa, mulai dari pantai Tuban (Bulu, Bancar, Jenu, Palang), Gresik (Sedayu, Manyar), Sidoarjo, Bangil (Raci), Probolinggo, Karang tekok, Banyuwangi (Suri Tani Pemuka) setiap muncul kasus *Vibrio* kondisi salinitasnya rata-rata > 25 ppt (Prajitno *et al*, 1998). Menurut Rukyani *et al.*, (1992), penyakit kunang-kunang hanya dikenal di daerah tropis seperti Philipina, Thailand, Indonesia dan Equador. Penyakit ini telah menyebar di seluruh Indonesia dan kasus serangannya dilaporkan terutama terjadi di daerah Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulsel, Bali dan Lampung.

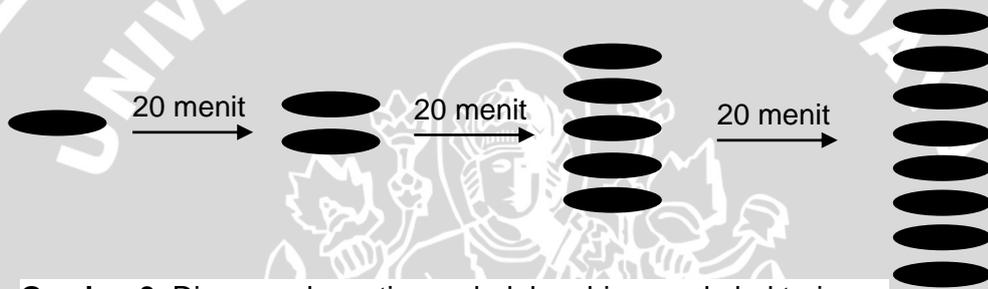
2.6.5 Pertumbuhan

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik yang meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi, selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteriostatik (Prajitno, Herawati dan Hariati, 1998). *Vibrio* termasuk kemoorganotropik, yaitu mikroba yang dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi. Medium yang cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri (Dwidjoseputro, 1998)

Umumnya bakteri *Vibrio* tumbuh secara optimal pada suhu berkisar dari 18 sampai 37 °C (Pelezar dan Chan, 1988). Menurut Lightner (1992) dalam

Prajitno *et al.* (1998), pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tersebut tidak tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati dan kisaran salinitas yang baik untuk dapat berkembang yaitu antara 20-35 ppt. Serta pH optimumnya untuk dapat tumbuh berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman dan Lee, 1984).

Volk dan Wheeler (1993) menyebutkan peningkatan jumlah bakteri terjadi dengan proses yang disebut pembelahan biner. Bakteri-bakteri tersebut membelah dengan cara memanjangkan sel diikuti dengan pembelahan sel yang membesar menjadi dua sel. Masing-masing sel ini kemudian membelah menjadi dua sel lagi dan seterusnya (Gambar 3).



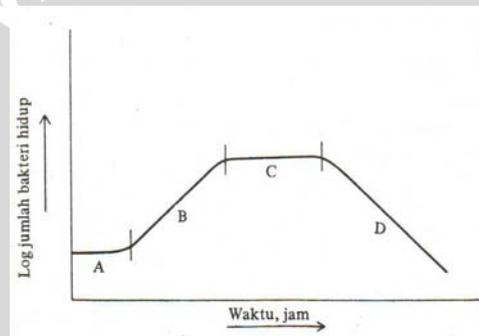
Gambar 3. Diagram skematis pembelahan biner pada bakteri

Beberapa ciri pertumbuhan bakteri pada setiap fase pertumbuhan menurut Pelczar dan Chan (1986) sebagai berikut:

- Fase Lamban : Tidak ada pertumbuhan populasi. Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukuran, substansi intraselular bertambah
- Fase Logaritma : Sel membelah dengan laju yang konstan. Massa menjadi dua kali lipat dengan laju sama. Aktivitas metabolik konstan, keadaan pertumbuhan seimbang
- Fase Statis : Penumpukan produk beracun dan kehabisan nutrisi. Beberapa sel mati dan yang lain tumbuh dan membelah. Jumlah sel hidup menjadi tetap

- Fase Kematian : Sel menjadi mati lebih cepat daripada terbentuknya sel baru, laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial. Bergantung kepada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan.

Pelezar dan Chan (1986) menyebutkan bahwa pertumbuhan bakteri mengacu pada perubahan dalam populasi total dan bukan perubahan dalam suatu individu organisme saja. Pada kondisi pertumbuhan seimbang ada suatu penambahan semua komponen selular (RNA, DNA, protein) secara teratur. Kurva pertumbuhan bakteri dapat disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva Pertumbuhan Bakteri (Pelezar dan Chan, 1986)

Keterangan :

A : Fase lamban

B : Fase logaritmik (eksponensial)

C : Fase statis

D : Fase kematian atau penurunan

2.6.6 Reproduksi

Dwijoseputro (1998) menyebutkan bahwa pada umumnya bakteri hanya mengenal satu macam pembiakan saja, yaitu pembiakan secara aseksual atau vegetatif. Pembiakan ini berlangsung sangat cepat, jika faktor-faktor luar menguntungkan. Pelaksanaan pembiakan yaitu dengan pembelahan diri atau *devisio*. Pembelahan diri dapat dibagi menjadi 3 fase, yaitu:

- Fase pertama, dimana sitoplasma terbelah oleh sekat yang tumbuh tegak lurus pada arah memanjang.
- Sekat tersebut diikuti oleh suatu dinding yang melintang. Dinding melintang ini tidak selalu merupakan penyekat yang sempurna, di tengah-tengah sering ketinggalan suatu lubang kecil. Dimana protoplasma kedua sel baru masih tetap berhubungan. Hubungan protoplasma itu disebut *plasmodesmida*.
- Fase yang terakhir yaitu ditandai dengan terpisahnya kedua sel. Ada bakteri yang segera berpisah, yaitu yang satu terlepas sama sekali daripada yang lain, setelah dinding melintang menyekat secara sempurna. Bakteri yang semacam ini merupakan koloni yang merata, jika dipelihara pada medium padat. Sebaliknya, bakteri-bakteri yang dindingnya lebih kokoh itu tetap bergandeng-gandengan setelah pembelahan. Bakteri merupakan koloni yang kasar.

2.7 Ekstraksi *G. verrucosa*

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan pelarut organik. Pelarut polar akan melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar atau disebut dengan "*like dissolve like*". Metode ekstraksi dibedakan menjadi 3 (unej.ac.id, 2008) yaitu:

1. Proses yang menghasilkan keseimbangan konsentrasi antara larutan dan residu padat. Contoh : *Maserasi, digesti, ultrasonic extraction*, dll
2. Proses Ekstraksi seksama/menyeluruh
Contoh : *Perkolasi, Countercurrent extraction*.
3. Ekstraksi dengan Gas superkritis

Secara umum ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari seluruh bagian tumbuhan seperti bunga, buah, daun, kulit batang dan akar menggunakan sistem maserasi menggunakan pelarut organik polar seperti etanol (Lenny, 2006). Penggunaan pelarut etanol dalam pembuatan ekstrak bertujuan untuk mengekstraksi semua senyawa yang berbobot molekul rendah (Harborne, 1987).

Proses ekstraksi akan menghasilkan ekstrak dari bahan alam yang diekstrak. Definisi ekstrak menurut Harborne (1987) yaitu sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi bahan baku yang telah ditetapkan.

2.8 Dillution Test

Metode dilusi adalah metode yang menggunakan antimikrobia dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat yang kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikrobia dengan kadar yang menghambat atau mematikan (Jawelz, 2005).

Prinsip metode ini adalah (Wikipedia.org, 2008) sejumlah antibiotika diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, lalu masing-masing konsentrasi diberikan pada suspensi kuman dalam media. Setelah diinkubasi, diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Contoh masing-masing konsentrasi anti-biotika yang menunjukkan hambatan pertumbuhan tersebut ditanam pada agar padat media pertumbuhan bakteri yang bebas

antibiotika dan diinkubasi. Konsentrasi antibiotika terendah yang membunuh 99,9% inokulum bakteri disebut Konsentrasi Bakterisidal Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC). Definisi Kadar hambat minimal (MIC) yaitu kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan organisme, dan kadar bunuh minimal (MBC) adalah kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroorganisme.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain :

- ◆ *Gracillaria verrucosa*
- ◆ Etanol 96%
- ◆ Botol hasil ekstrak
- ◆ indikator pp
- ◆ aquades
- ◆ asam fenol disulfonik
- ◆ amonium molybdate
- ◆ SnCl_2
- ◆ Na_2CO_3
- ◆ Larutan standart pembanding
- ◆ pH paper

3.1.2 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

- | | |
|-----------------|-----------------------------|
| ◆ Termometer | ◆ Pipet volume |
| ◆ Beaker glas | ◆ Pipet tetes |
| ◆ Gelas ukur | ◆ Corong |
| ◆ Kertas saring | ◆ <i>Hot Plate</i> /Pemanas |
| ◆ Tabung reaksi | ◆ Secchi disk |

- ◆ Kotak standart pH
- ◆ Refraktometer
- ◆ Oven
- ◆ Evaporator
- ◆ Labu penampung Etanol
- ◆ Selang water pump
- ◆ Pendingin spiral / *Rotary Evaporator*
- ◆ Erlenmeyer
- ◆ Buret
- ◆ Timbangan
- ◆ Labu evaporator
- ◆ Vacuum pump
- ◆ Water pump

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yaitu yaitu mengadakan percobaan untuk melihat hasil. Hasil yang didapat akan menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel - variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Nazir ,1988).

3.2.1 Data Primer

Data primer adalah data yang diperoleh secara langsung dari sumbernya, diamati dan dicatat untuk pertama kalinya. Data ini diperoleh secara langsung dengan melakukan pengamatan dan pencatatan dari hasil observasi, wawancara dan partisipasi aktif. Observasi atau pengamatan secara langsung adalah pengamatan yang dilakukan pada berbagai kegiatan secara aktif. Pengamatan kualitas air meliputi suhu, pH, salinitas, DO, nitrat dan fosfat.

3.2.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang bukan diusahakan sendiri pengumpulannya oleh peneliti misalnya dari majalah, keterangan-keterangan atau publikasi lainnya (Marzuki, 1983). Dengan demikian data sekunder ini dapat diperoleh dari buku-buku literatur dan penelitian-penelitian yang menunjang penelitian ini yang terkait dengan kandungan agar dari rumput laut jenis *Gracillaria verrucosa* dan kualitas air tambak yang mendukung pertumbuhan rumput laut.

3.2.3 Prosedur Pengambilan Sampel

a. Pengambilan Sampel Rumput laut *G. verrucosa*

Pengambilan sampel rumput laut *G. verrucosa* adalah sebagai berikut (Aslan, 1988) :

- Rumput laut diambil dari pangkal hingga ujungnya
- Dibersihkan dari kotoran, seperti pasir dan bebatuan
- Setelah bersih, rumput laut dijemur sampai kering (\pm 3 hari)
- Setelah kering rumput laut dimasukkan ke dalam tempat yang telah disediakan

Rumput laut *G. verrucosa* yang akan diekstraksi, pengambilan sampelnya dilakukan di lokasi budidaya rumput laut, yaitu pada saat umur panen 1 minggu, 3 minggu, 5 minggu, 7 minggu dan 9 minggu. Setiap pengambilan sampel diambil 4 thallus dari titik yang berbeda secara acak dengan pengulangan sebanyak 3x dengan total jumlah sampel 12 buah.

b. Pengambilan Sampel Air

Pengambilan sampel air dilakukan di lokasi budidaya yang sama. Nilai suhu, salinitas, pH, nitrat dan fosfat diukur di lapangan dari contoh yang diambil.

3.2.4 Metode Ekstraksi Sampel

Alat yang dibutuhkan :

- ◆ Oven
- ◆ Gelas erlenmeyer
- ◆ Kertas saring
- ◆ Labu penampung etanol
- ◆ Selang water pump
- ◆ Water bath
- ◆ Pendingin spiral / *Rotary evaporator*
- ◆ Timbangan
- ◆ Corong gelas
- ◆ Labu evaporator
- ◆ Evaporator
- ◆ Water pump
- ◆ Vacuum pump

Bahan yang dibutuhkan :

- ◆ Bahan alam
- ◆ Etanol 96%
- ◆ Aquades
- ◆ Botol hasil ekstrak

→ **Proses Ekstraksi**

Tahapan ekstraksi menurut (Winarsih dkk, 2008) adalah melalui proses pengeringan, ekstraksi, dan evaporasi dengan langkah perincian sebagai berikut

1. Proses pengeringan

- Cuci bersih *Gracillaria verrucosa* (sample basah) yang akan dikeringkan
- Potong kecil-kecil
- Lalu oven dengan suhu 80° C atau dengan panas matahari sampai kering (bebas kandungan air)

2. Proses Ekstraksi

- Setelah kering haluskan dengan blender sampai halus
- Timbang sebanyak 100 gr (sample kering)

- Masukkan 100 gr sample kering ke dalam gelas erlenmeyer kering ukuran 1 lt
- Kemudian rendam dengan etanol sampai volume 900 ml
- Kocok sampai benar-benar tercampur (\pm 30 menit)
- Didiamkan 1 malam sampai mengendap

3. Proses Evaporasi

- Ambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil
- Masukkan dalam labu evaporasi 1 lt
- Pasang labu evaporasi pada evaporator
- Isi water bath dengan air sampai penuh
- Pasang semua rangkaian alat, termasuk rotary evaporator , pemanas water bath (atur sampai 90°C), sambungkan dengan aliran listrik
- Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu
- Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu)
- Hasil yang diperoleh kira-kira 1/3 dari bahan alam (*Gracillaria*) kering
- Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik
- Simpan dalam freezer

3.2.5 Dilusion Test

Teknik dilusi sangat penting di dalam analisa mikrobiologi. Karena hampir semua metode perhitungan jumlah sel mikroba mempergunakan teknik ini, seperti TPC (*Total Plate Count*). Metode dilusi dapat dilakukan dengan menggunakan medium cair (*broth*) di dalam tabung (*tube dilution test*) atau dapat juga dengan menggunakan agar padat pada piring petri (*agar dilution test*). Pada cara yang menggunakan agar padat, larutan antimikroba yang sudah diencerkan

secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, dan selanjutnya diinokulasi dengan kuman. Pada metode dilusi, diperlukan larutan antimikroba dengan kadar menurun yang dibuat dengan menggunakan teknik pengenceran serial. Selanjutnya pada larutan/medium tersebut ditambahkan perbenihan cair kuman yang di tes. Dengan metode dilusi akan dapat diketahui :

- KHM (kadar hambat minimal) atau MIC (*minimal concentration inhibition*) yaitu kadar terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan kuman.
- KBM (kadar bunuh minimal) atau MBC (*minimal bactericidal concentration*) yaitu kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh kuman dari antimikroba.

Pada penelitian ini dikerjakan tes kepekaan metode dilusi dengan menggunakan medium cair di dalam tabung (Winarsih dkk, 2008).

a. Alat dan Bahan yang dibutuhkan :

- Tabung steril 6 buah
- Larutan ekstrak (bahan antimikroba)
- Perbenihan cair kuman (kepadatan 10^5 - 10^6 kuman/ml)
- MH *agar plate*
- MH *broth* sebagai larutan pengencer

b. Prosedur :

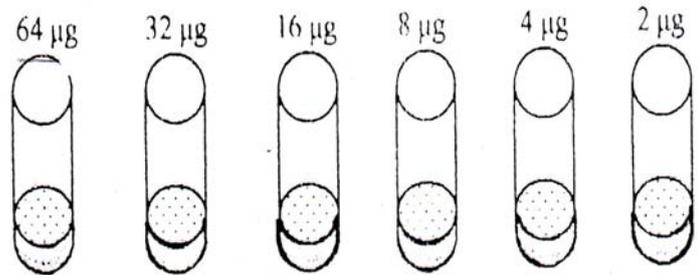
1. Berilah nomor 1 s/d 6 pada tabung steril yang disediakan
2. Buat larutan antimikroba dengan kadar tertentu (misalnya : 64 $\mu\text{g/ml}$)
3. Masukkan MH broth (1 ml) ke dalam tabung 2 s/d 6 (kecuali tabung no.1)
4. Masukkan larutan antimikroba (1 ml) ke dalam tabung 1 dan 2

5. Campurlah hingga rata larutan broth dengan larutan antimikroba pada tabung 2, kemudian pindahkan sebanyak 1 ml ke dalam tabung 3
6. Campurlah hingga rata larutan pada tabung 3, kemudian pindahkan sebanyak 1 ml ke dalam tabung 4
7. Kerjakan hal yang sama terhadap tabung 4 s/d 6
8. Pada tabung 6, setelah larutan tercampur rata, dibuang sebanyak 1 ml
9. Dari pengenceran di atas, maka konsentrasi awal antimikroba dari masing-masing tabung adalah seperti terlihat pada skema
10. Ke dalam masing-masing tabung kemudian ditambahkan perbenihan cair kuman sebanyak 1 ml.
11. Dengan demikian, volume masing-masing tabung menjadi 2 ml sehingga konsentrasi akhir antimikroba berubah (seperti terlihat pada skema)
12. Semua tabung dieramkan pada suhu 37°C selama 18-24 jam
13. Perhatikan dan catat pada tabung nomor berapa mulai terjadi kekeruhan. Kadar terendah pada tabung yang menunjukkan tidak ada kekeruhan merupakan KHM.
14. Untuk memperoleh data KBM, dilakukan dengan cara menanam isi tabung yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan (kekeruhan) sebanyak 0,1 ml (satu mata ose) pada medium agar MH padat. Kemudian dieramkan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan esok harinya dilihat ada tidaknya pertumbuhan koloni kuman. KBM adalah konsentrasi terendah dimana pada medium agar padat tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni

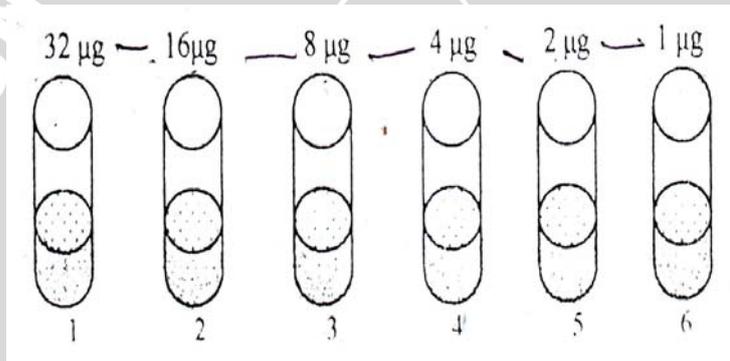
Secara skematis prosedur diatas dapat digambarkan sebagai berikut :

Hari ke 1 :

- Konsentrasi awal dari masing-masing larutan antimikroba (1 ml) adalah :



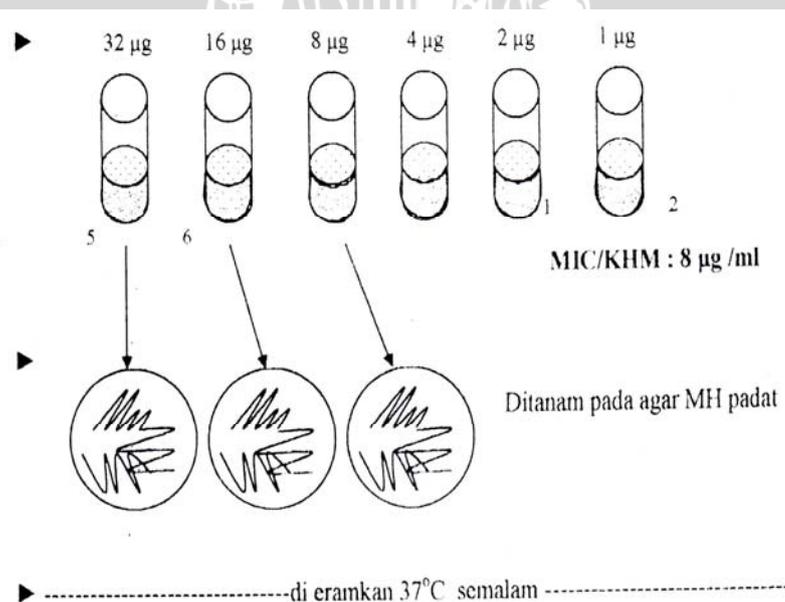
- Setelah ditambah biakan cair kuman maka volume menjadi 2 ml sehingga konsentrasi antimikroba menjadi :



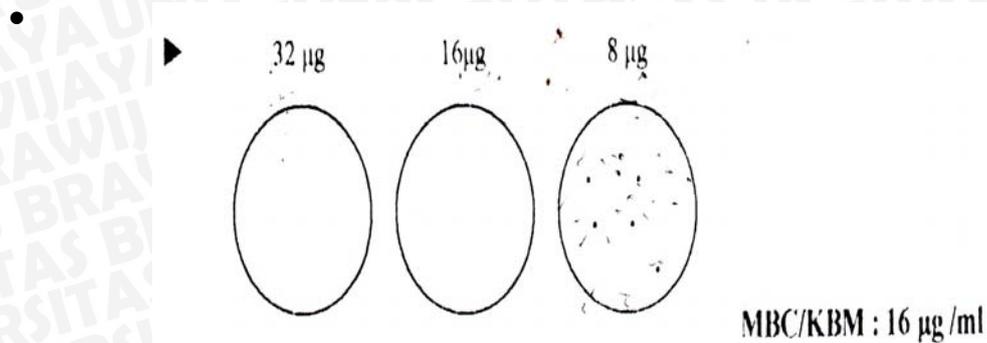
- -----dieramkan 37°C semalam-----

Hari ke-2 :

-



Hari ke-3 :



3.2.6 Parameter Penunjang Kualitas Air *Gracillaria verrucosa*

a. Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan thermometer Hg.

Tahapan kerjanya adalah sebagai berikut (Bloom, 1988) :

1. Mengukur suhu air pada tempat yang terlindung dari sinar matahari
2. Memasukkan thermometer kedalam perairan yang diukur suhunya sekitar 10 cm
3. Membiarkan selama 2-5 menit sampai skala suhu pada thermometer menunjukkan skala yang stabil
4. Membaca skala pada saat thermometer masih berada di dalam air serta jangan sampai tangan menyentuh bagian air raksa thermometer

b. Tingkat Keasaman (pH)

pH dikur dengan menggunakan pH paper, cara kerjanya adalah (Bloom,1988):

1. Memasukkan pH paper kedalam perairan selama kurang lebih 5 menit
2. Mengangkat dan mendinginkan pH paper sebentar
3. Mencocokkan perubahan warna yang terjadi dengan skala warna dan mencatat hasilnya

c. Salinitas

Salinitas diukur dengan memakai alat yaitu Refraktometer, cara kerjanya adalah (Fakultas Perikanan, 2005):

1. Membersihkan membran Refraktometer dengan aquadest dan mengeringkannya dengan tissue
2. Mengambil air sampel menggunakan pipet tetes dan ditetaskan 1-2 tetes pada membran Refraktometer kemudian ditutup dengan penutup membran
3. Mengarahkan Refraktometer menuju sumber cahaya dan nilai salinitas langsung dibaca pada lensa Refraktometer, yaitu skala pada batas bagian yang berwarna kebiruan di sebelah kanan tiang skala yang bersatuan ppt. (skala sebelah kiri menunjukkan nilai berat jenis air).

d. Nitrat

Pengukuran nitrat (Hariyadi *et al.*, 1992) dapat dilakukan dengan cara :

1. Menyiapkan larutan standar pembanding
2. Menyaring 100 ml sampel dan tuangkan kedalam cawan porselin
3. Menguapkan diatas pemanas air sampai kering
4. Mendinginkan dan tambahkan 2 ml asam fenol disulfonik dan aduk dengan pengaduk gelas
5. Mengencerkan dengan 10 ml aquades
6. Menambahkan NH_4OH (1-1) sampai terbentuk warna
7. Memindahkan larutan pada tabung nesler
8. Mengencerkan larutan dengan aquades sampai 100 ml
9. Memasukkan larutan dalam tabung reaksi
10. Membandingkan dengan larutan standar pembanding yang telah dibuat, baik secara visual atau dengan spektrofotometer (dengan pada panjang gelombang 410 μm)

e. Fosfat(PO_4^{3-})

Pengukuran ortofosfat (Hariyadi *et al.*, 1992) dapat dilakukan dengan cara :

1. Menyiapkan larutan standar pembanding
2. Menambahkan 2 ml ammonium molybdate asam sulfat kedalam masing – masing larutan standar yang telah dibuat dan goyangkan sampai larutan bercampur
3. Menambahkan 5 tetes larutan SnCl_2 dan dikocok, kemudian warna biru akan timbul (10–20 menit) sesuai dengan kadar fosfornya
4. Memasukkan 50 ml air sampel kedalam Erlenmeyer
5. Menambahkan 2 ml ammonium molybdate dan dikocok
6. Menambahkan 5 tetes larutan SnCl_2 dan dikocok
7. Membandingkan warna biru air sampel dengan larutan standar, baik secara visual atau dengan spektrofotometer (panjang gelombang 590 μm)



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi *G.verrucosa*

Sampel rumput laut *G.verrucosa* dalam penelitian ini merupakan hasil budidaya rumput laut yang diambil dari Tambak Instalasi APS Sidoarjo yang berlokasi di desa Pulokerto Kecamatan Kraton Kabupaten Pasuruan Jawa Timur. *G.verrucosa* ini diproses dengan metode ekstraksi untuk memperoleh bahan aktif dan selanjutnya diuji aktifitas antibakterinya dengan *dillution test* (metode dilusi). Bakteri uji yang digunakan dalam *dillution test* ini adalah *Vibrio anguillarum* dan *Vibrio alginoliticus*. Sebelum melalui tahapan ekstraksi dan pengujian aktivitas antibakteri, sampel rumput laut *G.verrucosa* terlebih dahulu melalui tahap pengeringan dengan oven atau dapat pula dijemur diatas sinar matahari \pm 3 hari agar benar-benar kering.

Harborne (1983) menyatakan bahwa tumbuhan perlu melalui tahapan pengeringan sebelum diekstraksi. Bila ini dilakukan, pengeringan tersebut harus dilakukan dalam keadaan terawasi untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang terlalu banyak. Bahan harus dikeringkan secepat-cepatnya, tanpa menggunakan suhu tinggi, lebih baik dengan aliran udara yang baik. Setelah betul-betul kering, tumbuhan dapat disimpan untuk jangka waktu lama sebelum digunakan untuk analisis. *G.verrucosa* kering dihaluskan dengan blender bertujuan agar mempermudah pada saat perendaman dengan pelarut etanol yang menyari bahan aktif yang terkandung di dalamnya.

Gambaran *G.verrucosa* kering setelah dikeringkan berupa serabut-serabut kering berwarna merah keunguan, pipih panjang dan berantai seperti terlihat pada Gambar 5 berikut ini :



Gambar 5. *G. verrucosa* setelah melalui tahap pengeringan

Ekstraksi *G. verrucosa* pada penelitian ini menggunakan pelarut alkohol etanol, karena etanol dapat mengikat zat aktif yang terkandung di dalamnya. Harborne (1983) menyatakan bahwa golongan alkohol, bagaimanapun juga adalah pelarut serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan. Etanol bersifat relatif polar sehingga senyawa yang tersari relatif bersifat polar. Kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri sehingga terlihat nilai KBM. Ekstraksi pada prinsipnya adalah menyari komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan pelarut tertentu. Jenis dan jumlah yang dapat tersari tergantung sifat komponen tersebut.

Teknik ekstraksi *G. verrucosa* dilakukan dengan teknik maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (unej.ac.id, 2008). Penyarian dengan menggunakan pelarut beberapa hari (5 hari) dengan pengadukan (tidak kontinu) sesuai untuk bahan aktif yang mudah larut dalam cairan penyari.

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut etanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (wikipedia.org, 2008). Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan alat ekstraktor *rotary evaporator* (Gambar 6.)



Gambar 6. Proses tahapan ekstraksi *G. verrucosa*
Keterangan : (a) Alat ekstraktor *rotary evaporator*

Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak *G. verrucosa* dalam bentuk cair/larutan yang ditampung dalam botol film. Hasil ekstraksi ini perlu dilakukan penyimpanan agar tidak rusak sebelum dianalisis aktivitas antibakterinya (*dilution test*). Salah satu cara penyimpanan dan pengawetan sampel untuk analisis laboratorium adalah menyimpan dalam suhu rendah agar tidak terkontaminasi, dengan penyimpanan dalam lemari pendingin (Unej.ac.id, 2008).



Gambar 7. Hasil ekstraksi (ekstrak cair *G. verrucosa*)
Keterangan : (a) Larutan ekstrak *G. verrucosa* dalam botol film

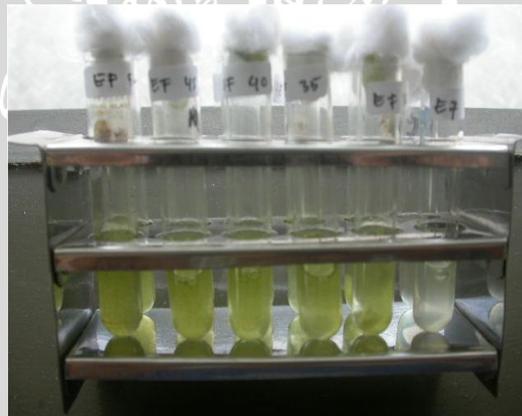
4.2 Dillution Test

Metode dilusi (pengenceran) prinsipnya adalah sejumlah antibiotika diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, lalu masing-masing konsentrasi diberikan pada suspensi kuman dalam media. Setelah diinkubasi, diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration /MIC*. Contoh masing-masing konsentrasi anti-biotika yang menunjukkan hambatan pertumbuhan tersebut ditanam pada agar padat media pertumbuhan bakteri yang bebas antibiotika dan diinkubasi. Konsentrasi antibiotika terendah yang membunuh 99,9% inokulum bakteri disebut Konsentrasi Bakterisidal Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration /MBC* (Raharni,dkk. 2000)

Pengamatan kualitatif terhadap ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media dilakukan untuk mengetahui *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC), dan *MBC Minimal Bactericidal Concentration* yang mampu menghambat atau mematikan pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol sebagai pembanding (Bonang dan Koeswardono, 1982). Dalam hal ini kontrol yang digunakan adalah media cair (NB) yang mengandung bakteri sebagai kontrol positif (+) dan NB yang tidak mengandung bakteri sebagai kontrol negatif (-). Uji MIC dan MBC dilakukan dengan metode *tubb dillution* (dilakukan di dalam tabung). Cara pengujiannya yaitu dengan mengamati kekeruhan campuran NB yang sudah diinokulasi bakteri dengan ekstrak *G.verrucosa* dan diinkubasi selama 24 jam.

Teknik dilusi penting di dalam analisa mikrobiologi. Karena hampir semua metode perhitungan jumlah sel mikroba mempergunakan teknik ini, seperti TPC (*Total Plate Count*). Metode dilusi dilakukan dengan menggunakan medium cair

(broth) di dalam tabung (*tube dilution test*) atau dapat juga dengan menggunakan agar padat pada piring petri (*agar dilution test*). Pada cara yang menggunakan agar padat, larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, dan selanjutnya diinokulasi dengan kuman. Pada metode dilusi, diperlukan larutan antimikroba dengan kadar menurun yang dibuat dengan menggunakan teknik pengenceran serial. Selanjutnya pada larutan/medium tersebut ditambahkan perbenihan cair kuman yang di tes (Winarsih,2008). Pada penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak *G.verrucosa* ini ini dikerjakan tes kepekaan metode dilusi dengan menggunakan medium cair di dalam tabung (Gambar 8.):



Gambar 8. Metode Dilusi (pengenceran)

Keterangan : (a) Tabung reaksi larutan ekstrak *G.verrucosa*

Konsentrasi ekstrak untuk pengujian terhadap bakteri uji yaitu untuk *V.anguillarum* : 0%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%; dan untuk konsentrasi uji *V.alginoliticus* : 0%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%. Penggunaan konsentrasi uji yang berbeda adalah untuk mengetahui seberapa besar pengaruh konsentrasi terhadap daya hambat dan kadar bunuh masing-masing bakteri (Rahardi, 2000).

4.3 Analisa Hasil Uji Anti Bakteri *V. alginoliticus*

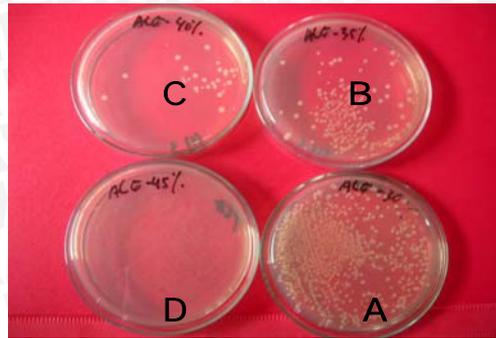
Analisa hasil uji antibakteri ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yang masing-masing diulang 4 kali. Perlakuan pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak *G.verucosa*, yaitu konsentrasi 0% (kontrol), 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50%. Ekstrak *G.verucosa* diuji aktivitas antibakterinya apakah dapat menghambat atau membunuh bakteri *V.alginoliticus*. Data hasil analisa terlihat pada tabel hasil dilusi nilai MIC dan MBC *V.alginoliticus* seperti pada Tabel 3 :

KONSENTRASI EKTRAK GRACILLARIA	REPLIKASI BAKTERI <i>V. alginoliticus</i>				RERATA	CFU/ PLATE
	I	II	III	IV		
0%	235.10 ⁵	243.10 ⁵	297.10 ⁵	288.10 ⁵	265,75.10 ⁵	2,7.10 ⁷
30%	289.10 ³	267.10 ³	238.10 ³	235.10 ³	257,25.10 ³	2,6.10 ⁵
35%	127.10 ²	153.10 ²	174.10 ²	145.10 ²	149,75.10 ²	1,5.10 ⁴
40%	46.10 ¹	58.10 ¹	62.10 ¹	37.10 ¹	50,75.10 ¹	5,1.10 ²
45%	0	0	0	0	0	0
50%	0	0	0	0	0	0

Tabel 3. Tabel hasil *Dillution test* terhadap *V.alginoliticus*

Keterangan : MIC = 40% , CFU/Plate = 5,1.10²
MBC = 45%, CFU/Plate = 0

Berdasarkan uji kadar hambat minimal (MIC) diketahui kadar hambat minimal ekstrak *G.verrucosa* terhadap bakteri *V.Alginoliticus* terlihat pada konsentrasi 40%. Hal ini disebabkan konsentrasi 40% merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V.Alginoliticus*. Pada konsentrasi 40% dinyatakan sebagai kadar hambat minimal (MIC) bakteri, dikarenakan jumlah bakteri berkurang (hasil mulai tampak jernih), hal ini ditandai dengan penurunan derajat kekeruhan apabila dibandingkan dengan kontrol. Berikut disajikan gambar hasil dilusi terhadap bakteri *V.alginoliticus*.



Keterangan :

- A** : Konsentrasi 30%
- B** : Konsentrasi 35%
- C** : Konsentrasi 45% →MBC
- D** : Konsentrasi 40% → MIC

Gambar 9. Hasil *dillution test* *V.alginoliticus* dengan konsentrasi yang berbeda

Taslihan (1986) menyatakan, apabila media keruh bakteri masih tumbuh yang berarti ekstrak tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri. Apabila media jernih berarti ekstrak efektif menghambat pertumbuhan bakteri (bersifat bakteristatik) maupun membunuh bakteri (bersifat bakteriosidal). Kadar hambat minimal sangat penting untuk mengetahui resistensi mikroorganisme terhadap antimikroba dan juga untuk monitoring aktivitas antimikroba (wikipedia.org, 2008).

Pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak *G.verrucosa* dengan konsentrasi 0%, 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50% dapat menghentikan pertumbuhan bakteri *V.alginoliticus* pada konsentrasi 45% (MBC *V. alginoliticus* = 45%). Pada media bakteri, konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil ekstrak yang dapat membunuh bakteri, karena pada media bakteri jernih, tidak ditemukan koloni bakteri sehingga dinyatakan sebagai konsentrasi daya bunuh minimal (KBM / MBC). Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *G. verrucosa*, maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya zat antibakteri yang menghambat dan mematikan bakteri uji seiring dengan meningkatnya konsentrasi dari setiap perlakuan. Jawetz dan Aldelberg's, (1982) menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan, maka kemampuan untuk membunuh bakteri semakin cepat.

Untuk menguji hipotesis tentang pengaruh faktor perlakuan terhadap keragaman data hasil percobaan maka dilakukan analisa keragaman sbb :

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
0%	23500000	24300000	29700000	28800000	106300000	26575000
30%	289000	267000	238000	235000	1029000	257250
35%	12700	15300	17400	14500	59900	14975
40%	460	580	620	370	2030	507.5
45%	0	0	0	0	0	0
50%	0	0	0	0	0	0
Jumlah	23802160	24582880	29956020	29049870	107390930	
Rata-rata	3967027	4097146.667	4992670	4841645		

Tabel 4. Tabel hasil analisa keragaman data uji antibakteri *V.alginoliticus*

Dari hasil analisa keragaman dilakukan uji anova (Analysis of Variance) untuk melihat apakah 2 atribut (variabel) secara terpisah maupun bersama-sama apakah memiliki pengaruh terhadap variabel lain. Berikut disajikan data hasil uji anova pada Tabel 5 sebagai berikut :

Tabel 5. Uji Anova

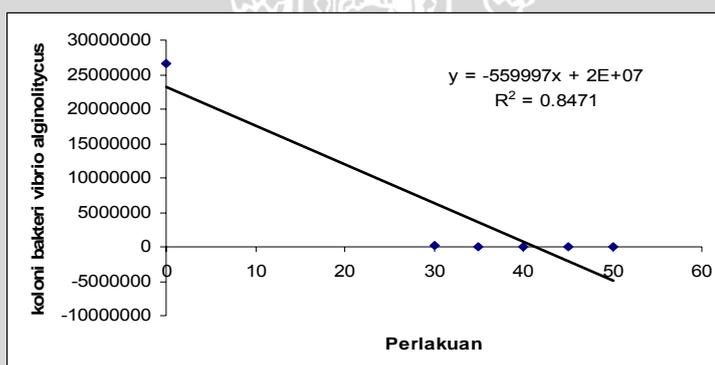
SK	db	JK	KT	F hit	Notasi	F TABEL	
						0.05	0.01
Perlakuan	5	2344654281355020.0	468930856271004.00	287.595	**	2.77	4.25
Galat	18	29349480176576.5	1630526676476.47				
Total	23	2374003761531600.0					

Berdasarkan pada tabel analisis ragam diatas diketahui bahwa nilai F hitung pada perlakuan (287.595) > dari F tabel $(_{0,05 ; 5 ; 18}) = 2.77$ atau nilai Sig < 0,05 maka dapat dikatakan perlakuan mempunyai perbedaan pengaruh yang signifikan. Untuk mengetahui perlakuan mana yang terbaik maka dilakukan uji lanjut menggunakan BNT 5% seperti pada Tabel 6 :

Tabel 6. Uji BNT 5% = 1896963.143

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
45	0	A
50	0	A
40	507.5	A
35	14975	A
30	257250	A
0	26575000	B

Untuk uji lanjut diatas dinyatakan mempunyai pengaruh yang berbeda jika mempunyai notasi yang berbeda dan jika ada satu notasi yang sama maka perbedaan pengaruh perlakuan tersebut sama. Berdasarkan pada tabel diatas didapatkan bahwa notasi untuk perlakuan 0% memiliki notasi yang berbeda dengan perlakuan yang lain sehingga perlakuan 0% terdapat perbedaan yang signifikan.



Dari persamaan di atas dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

Laju pertumbuhan akan menurun sebesar 559997 satuan untuk setiap peningkatan konsentrasi. Jadi apabila konsentrasi meningkat 1%, maka banyaknya koloni akan menurun sebesar 559997. Dari grafik diatas diperoleh hasil R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,8471. Artinya bahwa 84,71% variabel koloni bakteri akan dipengaruhi oleh variabel bebasnya, yaitu konsentrasi. Dalam artian konsentrasi akan memberikan kontribusi terhadap banyaknya koloni bakteri sebesar 84,71%. Sedangkan sisanya 15,29% variabel koloni bakteri akan dipengaruhi oleh variabel-variabel yang lain yang tidak dibahas dalam penelitian ini.



4.4 Analisa Hasil Uji Bakteri *V. anguillarum*

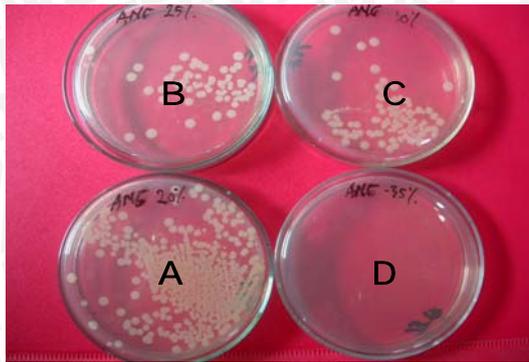
Analisa hasil uji antibakteri ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yang masing-masing diulang 4 kali. Perlakuan pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak *G.verucosa*, yaitu konsentrasi 0% (kontrol), 20%, 25%, 30%, 35%, dan 40%. Ekstrak *G.verucosa* diuji aktivitas antibakterinya apakah dapat menghambat atau membunuh bakteri *V.anguillarum*. Data hasil analisa terlihat pada tabel hasil dilusi nilai MIC dan MBC *V.anguillarum* seperti pada Tabel 7 :

KONSENTRASI EKTRAK GRACILLARIA	REPLIKASI				RERATA	CFU/ PLATE
	I	II	III	IV		
0%	245.10 ⁵	284.10 ⁵	291.10 ⁵	305.10 ⁵	281,25.10 ⁵	2,8.10 ⁷
20%	296.10 ³	228.10 ³	232.10 ³	279.10 ³	258,75.10 ³	2,6.10 ⁵
25%	59.10 ²	63.10 ²	72.10 ²	85.10 ²	69,75.10 ²	7,0.10 ³
30%	76.10 ¹	88.10 ¹	36.10 ¹	49.10 ¹	62,25.10 ¹	6,2.10 ²
35%	0	0	0	0	0	0
40%	0	0	0	0	0	0

Tabel 7. Tabel hasil *Dillution test* terhadap *V.anguillarum*

Keterangan : MIC = 30% , CFU/Plate = 6,2.10²
MBC = 35%, CFU/Plate = 0

Kadar hambat minimal (MIC) ekstrak *G.verrucosa* terhadap bakteri *V.anguillarum* terlihat pada konsentrasi 30%. Konsentrasi 30% merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V.Alginoliticus*. Pada konsentrasi 30% dinyatakan sebagai kadar hambat minimal (MIC) bakteri, dikarenakan jumlah bakteri berkurang, hal ini ditandai dengan penurunan derajat kekeruhan apabila dibandingkan dengan kontrol. Gambar hasil *Dillusion test* pada *V.anguillarum* adalah sebagai berikut :



Keterangan :

- A : Konsentrasi 20%
- B : Konsentrasi 25%
- C : Konsentrasi 30%
- D : Konsentrasi 35%

Gambar 10. Hasil dilution tes *V. anguillarum* dengan konsentrasi yang berbeda

Taslihan (1986) menyatakan, apabila media keruh bakteri masih tumbuh yang berarti ekstrak tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri. Apabila media jernih berarti ekstrak efektif menghambat pertumbuhan bakteri (bersifat bakteristatik) maupun membunuh bakteri (bersifat bakteriosidal). Kadar hambat minimal sangat penting untuk mengetahui resistensi mikroorganisme terhadap antimikroba dan juga untuk monitoring aktivitas antimikroba (wikipedia.org, 2008).

Pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak *G. verrucosa* dengan konsentrasi 0%, 20%, 25%, 30%, 35%, dan 40% dapat menghentikan pertumbuhan bakteri *V. anguillarum* pada konsentrasi 35% (MBC *V. anguillarum* = 35%). Pada media bakteri, konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil ekstrak yang dapat membunuh bakteri, karena pada media bakteri jernih, tidak ditemukan koloni bakteri sehingga dinyatakan sebagai konsentrasi daya bunuh minimal (KBM / MBC). Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *G. verrucosa*, maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya zat antibakteri yang menghambat dan mematikan bakteri uji seiring dengan meningkatnya konsentrasi dari setiap perlakuan. Jawetz dan Aldelberg's, (1982) menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan, maka kemampuan untuk membunuh bakteri semakin cepat.

Untuk menguji hipotesis tentang pengaruh faktor perlakuan terhadap keragaman data hasil percobaan maka dilakukan analisa keragaman, seperti pada Tabel 8 berikut :

Perlakuan	Ulangan				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4		
0	24500000	28400000	29100000	30500000	112500000	28125000
20	296000	228000	232000	279000	1035000	258750
25	5900	6300	7200	8500	27900	6975
30	760	880	360	490	2490	622.5
35	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0
Jumlah	24802660	28635180	29339560	30787990	113565390	
Rata-rata	4133777	4772530	4889926.667	5131331.667		

Tabel 8. Tabel hasil analisa keragaman data uji antibakteri *V.anguillarum*

Dari hasil analisa keragaman dilakukan uji anova (Analysis of Variance) untuk melihat apakah 2 atribut (variabel) secara terpisah maupun bersama-sama apakah memiliki pengaruh terhadap variabel lain. Berikut disajikan data hasil uji anova pada Tabel 9 sebagai berikut :

Tabel 9. Uji Anova

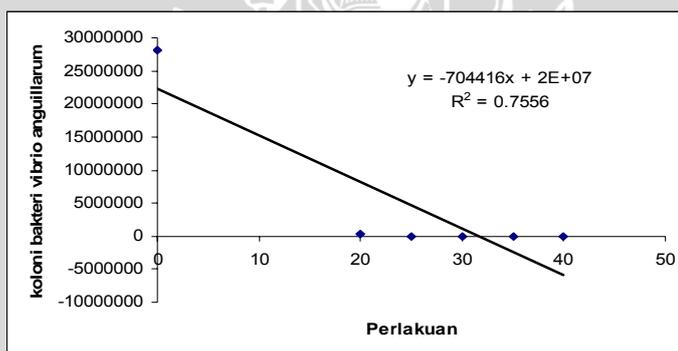
SK	Db	JK	KT	F hit	Notasi	F TABEL	
						0.05	0.01
Perlakuan	5	2626951427158690.0	525390285431737.00	477.363	**	2.77	4.25
Galat	18	19810962909174.0	1100609050509.67				
Total	23	2646762390067860.0					

Berdasarkan pada tabel analisis ragam diatas diketahui bahwa nilai F hitung pada perlakuan (287.595) > dari F tabel $(_{0,05 ; 5 ; 18}) = 2.77$ atau nilai Sig < 0,05 maka dapat dikatakan perlakuan mempunyai perbedaan pengaruh yang signifikan. Untuk mengetahui perlakuan mana yang terbaik maka dilakukan uji lanjut menggunakan BNT 5% seperti pada Tabel 10 :

Tabel 10. Uji BNT 5% = 1896963.143

Perlakuan	Rata-rata	Notasi
35	0	A
40	0	A
30	622.5	A
25	6975	A
20	258750	A
0	28125000	B

Untuk uji lanjut diatas dinyatakan mempunyai pengaruh yang berbeda jika mempunyai notasi yang berbeda dan jika ada satu notasi yang sama maka perbedaan pengaruh perlakuan tersebut sama. Berdasarkan pada tabel diatas didapatkan bahwa notasi untuk perlakuan 0% memiliki notasi yang berbeda dengan perlakuan yang lain sehingga perlakuan 0% terdapat perbedaan yang signifikan.



Dari persamaan di atas dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

Laju pertumbuhan akan menurun sebesar 704416 satuan untuk setiap peningkatan konsentrasi. Jadi apabila konsentrasi meningkat 1%, maka banyaknya koloni akan menurun sebesar 704416. Dari grafik diatas diperoleh hasil R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,7556. Artinya bahwa 75,56% variabel koloni bakteri akan dipengaruhi oleh variabel bebasnya, yaitu konsentrasi. Dalam artian konsentrasi akan memberikan kontribusi terhadap banyaknya koloni sebesar 75,56%. Sedangkan sisanya 24,44% variabel koloni bakteri akan dipengaruhi oleh variabel-variabel yang lain yang tidak dibahas dalam penelitian ini.

4.5 Aktivitas Antibakteri Ekstrak *G.verrucosa* terhadap *V.alginoliticus* dan *V.anguillarum*

Berdasarkan nilai uji dilusi ekstrak *G.verrucosa* didapatkan bahwa nilai MIC kadar hambat bakteri *V.anguillarum* 30% ; *V.alginoliticus* 40% dan nilai MBC kadar bunuh maksimal bakteri *V.anguillarum* 35% ; *V.alginoliticus* 45%, sehingga disimpulkan bahwa ekstrak *G.verrucosa* bersifat bakteriostatik pada konsentrasi 30% (*V.anguillarum*); 40% (*V.alginoliticus*) dan bakterisidal pada konsentrasi 35% (*V.anguillarum*); 40% (*V.alginoliticus*). hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *G.verrucosa* dapat dikategorikan sebagai agent antibakteri dan bersifat sebagai antimikrobia.

Senyawa antimikrobia memiliki cara kerja untuk merusak membran yang berfungsi memelihara integritas komponen-komponen seluler sehingga mengakibatkan terhambatnya sel dan matinya sel. Membran sitoplasma adalah lapisan tipis yang terletak di sebelah dalam dinding sel, tersusun atas 60 % protein dan 40 % lipid yang umumnya bersifat fosfolipid. Membran plasma berfungsi mengatur masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi dan sebagai barier yang fungsinya mengatur keluar masuknya bahan-bahan dari dalam sel atau dari luar sel. Pada membran sitoplasma bakteri dapat ditemukan enzim-enzim yang mampu mengkatalisir reaksi kimia yang berkaitan dengan proses pemecahan (*breakdown*) bahan makanan untuk menghasilkan energi (Winarsih *et al.*, 2003).

Kemampuan ekstrak *G.verrucosa* sebagai agent antibakteri dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri *Vibrio* adalah karena terdapatnya senyawa terpenoid. Simanjuntak (1995) menyatakan bahwa analisa kimia alga merah mengandung senyawa terpenoid, asetogenik maupun senyawa aromatik. Umumnya senyawa yang ditemukan pada alga merah bersifat anti mikroba, anti inflamasi, anti virus dan bersifat sitotoksik.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan senyawa terpenoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri yaitu monoterpenoid linalool, diterpenoid (-) hardwicklic acid, phytol, triterpenoid saponin dan triterpenoid glikosida. Senyawa diterpenoid bekerja sebagai fungisida, racun terhadap hewan, antitumor, dan antivirus (Robinson, 1995). Senyawa diterpene kalihinol sangat potensial untuk menghambat biosintesis dari bakteri (Mayer et al., 2007). Pada umumnya golongan terpena terdiri dari senyawa yang bersifat bakterisidal dan fungisidal seperti senyawa sinamladehida, fenol, eugenol, sitral dan linalool (Knobloch et al., 1989 dalam Maryono dan Ginting, 2006).

Terpen atau terpenoid aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa.. Mekanisme kerja terpen belum diketahui dengan baik dan dispekulasi terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Indobic, 2009). Mekanisme kerja antibakteri pada umumnya menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel, menggumpalkan protein bakteri sehingga terjadi hidrolisis dan difusi cairan sel yang disebabkan karena perbedaan tekanan osmose (IptekNet, 2007).

Suwandi (2008) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa, senyawa terpenoid dapat memblok siklus sel pada fase G2/M dengan menstabilkan benang-benang *spindle* pada fase mitosis sehingga menyebabkan proses mitosis terhambat. Pada tahap selanjutnya, akan terjadi penghambatan proliferasi sel dan pemacuan apoptosis. Senyawa terpenoid juga mampu menghambat enzim topoisomerase pada sel mamalia. Ada dua kelas enzim topoisomerase pada sel mamalia, tipe I yang memotong dan memecah untai tunggal dari DNA dan tipe II yang memotong dan memecah DNA untai ganda. Inhibitor enzim topoisomerase akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan DNA terpotong, sehingga dapat menyebabkan terjadinya kerusakan DNA. Adanya kerusakan DNA dapat

menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis sehingga dapat memacu terjadinya apoptosis.

4.6 Lingkungan Hidup Bakteri

Bakteri memerlukan unsur kimiawi serta kondisi fisik tertentu untuk dapat tumbuh dengan baik. Sebagai parameter penunjang, dalam penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap pH media, dan suhu inkubator.

Pada penelitian ini, pengukuran pH dilakukan menggunakan pH paper pada saat media dalam kondisi cair. Dari hasil pengukuran, didapatkan pH media sebesar 7. Kondisi ini baik untuk pertumbuhan bakteri. Disamping nutrisi yang memadai, sejumlah kondisi lain harus dipenuhi untuk menumbuhkan bakteri. Media harus mempunyai pH yang tepat yaitu tidak terlalu asam dan tidak terlalu basa, pada dasarnya tidak satupun bakteri dapat tumbuh baik pada pH lebih dari 8. Sebagian besar bakteri patogen tumbuh baik pada pH netral ($\text{pH} = 7$) atau pada pH yang sedikit basa (Volk dan Wheeler, 1993). Bakteri *Vibrio* dapat tumbuh baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman *et al.*, 1984 dalam Prajitno, 2008).

Suhu yang diterapkan selama masa inkubasi dapat mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri, karena mempengaruhi laju semua reaksi seluler. Selain itu, suhu dapat juga mempengaruhi pola metabolisme, persyaratan nutrisi dan komposisi sel-sel bakteri (Dwijoseputro, 1998). Suhu inkubator selama penelitian adalah 35°C . Menurut Prajitno (2005), suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp berkisar antara $30-35^{\circ}\text{C}$. Sedangkan pada suhu 4°C dan 45°C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C akan mati. Jadi, suhu inkubasi selama penelitian berada pada kisaran optimum untuk pertumbuhan bakteri *V. alginoliticus* dan *V. anguillarum*.

4.7 Parameter Kualitas Air *G.verrucosa*

Organisme laut memiliki syarat-syarat lingkungan agar dapat hidup dan tumbuh dengan baik. Semakin sesuai kondisi lingkungan perairan maka akan semakin baik pertumbuhan suatu organisme. Rumput laut merupakan salah satu organisme laut yang memerlukan habitat lingkungan untuk tumbuh dan berkembang biak. Pertumbuhan rumput laut sangat tergantung dari kondisi ekologis perairan antara lain seperti : suhu, salinitas, pH, DO, nitrat dan ortofosfat (Yahyah, 2003). Hal ini menjadikan *G.verrucosa* akan dapat tumbuh dengan baik bila kondisi kualitas air tempat hidupnya itu masih dalam kisaran yang memungkinkan bagi kehidupan dan pertumbuhan rumput laut secara baik.

Data hasil pengukuran kualitas air selama penelitian ini diperoleh setiap 2 minggu sekali pada saat panen yaitu selama 9 minggu di tambak APS Sidoarjo Desa Pulokerto Kecamatan Kraton Kabupaten Pasuruan Jawa Timur seperti yang tertera pada Tabel 11 berikut :

Tabel .11 Data Kualitas air *G.verrucosa*

Umur (Minggu)	Suhu	Salinitas	pH	DO	Nitrat	Ortofosfat
1	27.32	26	7.60	14.0	0.10	0.15
3	27.99	27	7.70	14.1	0.13	0.18
5	28.16	28	7.75	14.4	0.15	0.21
7	28.65	28	7.90	15.2	0.19	0.25
9	28.92	27	7.80	14.8	0.17	0.23

4.7.1 Suhu

Suhu mempunyai perairan yang sangat penting bagi kehidupan dan pertumbuhan rumput laut dan suhu perairan mempengaruhi laju fotosintesis (Eidman, 1991). Dari hasil penelitian didapatkan kisaran suhu *G.verrucosa* dari umur 1 minggu sampai umur 9 minggu adalah 27.32 °C – 28.92°C. Kisaran nilai suhu untuk rumput laut tersebut masih dinyatakan aman dan sesuai untuk budidaya *Gracilaria verrucosa*. Menurut Aslan (1998), kisaran suhu perairan yang

baik untuk budidaya rumput laut di tambak yaitu berkisar antara 18 - 30 °C dan kisaran suhu yang optimum untuk *Gracilaria* adalah 20 – 28 °C.

4.7.2 Salinitas

Salinitas merupakan faktor yang penting bagi pertumbuhan rumput laut. Kisaran salinitas rumput laut yang terlalu tinggi diduga dapat menjadi penyebab pertumbuhan rumput laut yang kurang baik dan kisaran salinitas yang terlalu rendah dapat menyebabkan pertumbuhan rumput laut menjadi tidak normal (Yahyah, 2003). Hasil penelitian menunjukkan kisaran salinitas *G.verrucosa* dari umur 1 minggu sampai umur 9 minggu antara 26 – 28 ppm, dimana nilai salinitas rumput laut *G.verrucosa* masih dikatakan normal dan baik untuk budidaya.

4.7.3 pH

Derajat keasaman atau pH merupakan salah satu faktor penting dalam kehidupan rumput laut (Hadiwigemo, 1990). Hasil penelitian menunjukkan kisaran pH *G.verrucosa* dari umur 1 minggu sampai umur 9 minggu antara 7.60 – 7.90, di mana nilai pH rumput laut *G.verrucosa* dapat dikatakan normal dan baik untuk budidaya *Gracilaria*. Derajat keasaman atau pH yang diperlukan untuk pertumbuhan rumput laut *G.verrucosa* antara netral sampai basa dengan kisaran optimum adalah 8.

4.7.4 DO

Oksigen terlarut atau DO merupakan salah satu faktor yang penting dalam kehidupan organisme untuk proses respirasi. Kadar oksigen terlarut bervariasi tergantung pada suhu dan salinitas. Nilai oksigen terlarut terendah adalah 5 mg/l, sebab apabila oksigen terlarut lebih rendah dari 4 mg/l dapat diindikasikan perairan tersebut mengalami gangguan (kekurangan oksigen)

akibat kenaikan suhu pada siang hari. Hasil penelitian menunjukkan kisaran DO *G.verrucosa* dari umur 1 minggu sampai umur 9 minggu antara 14.0 – 15.2 mg/l, di mana nilai DO untuk rumput laut *G.verrucosa* tersebut masih dikatakan normal dan baik untuk budidaya.

4.7.5 Nitrat

Nitrat adalah bentuk umum nitrogen di perairan alami dan merupakan nutrisi utama bagi pertumbuhan rumput laut. Nitrat-nitrogen sangat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Senyawa ini dihasilkan dari proses oksidasi sempurna senyawa nitrogen di perairan (Effendi, 2003). Nitrat merupakan bentuk senyawa nitrogen yang mudah di serap tanaman. Hasil penelitian menunjukkan kisaran nitrat *G.verrucosa* dari umur 1 minggu sampai umur 9 minggu antara 0.10 – 0.19 ppm, di mana nilai nitrat untuk rumput laut *G.verrucosa* tersebut masih dikatakan normal dan baik untuk budidaya.

4.7.6 Fosfat

Fosfat merupakan bentuk fosfor yang dapat dimanfaatkan oleh rumput laut (Effendi, 2003). Hasil penelitian menunjukkan kisaran fosfat *Gracilaria verrucosa* dari umur 1 minggu sampai umur 9 minggu antara 0.15 – 0.25 ppm, di mana nilai fosfat untuk rumput laut *G.verrucosa* tersebut masih dalam kisaran normal dan baik untuk budidaya *Gracilaria*. Fosfat yang dibutuhkan untuk budidaya rumput laut berada pada kisaran 0.10 – 0.20 ppm (Eidman, 1991)

5. PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Hasil analisa ekstrak *G.verrucosa* dapat digunakan sebagai agent antibakteri baik yang bersifat bakteriostatik ditunjukkan dengan nilai MIC (*V.alginoliticus* = 40% ; MIC *V.anguillarum* = 30%) serta bersifat bakterisidal dengan nilai MBC (*V.alginoliticus* = 45% ; MBC *V.anguillarum* 35%), yang memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap bakteri *V.alginoliticus* dan *V.anguillarum*.

5.2 SARAN

Diperlukan adanya purifikasi ekstrak *G.verrucosa* sebagai agent antibakteri dengan HPLC untuk mendapatkan senyawa turunan murni dari ekstrak *G.verrucosa* untuk menekan bakteri *V.alginoliticus* dan *V.anguillarum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Algabase. 2008. *Gracillariaverrucosa*. <http://www.algaebase.org/> .Akses 12 Juli 2008
- Aslan. 1998. *Budidaya Rumput Laut*. Penerbit Kanisius. Jakarta
- Anggadireja, J.T, Achmad, Z., Heri, P dan Sri, I. 2006. *Rumput Laut*. Penebar Swadaya. Depokbit Kanisius. Yogyakarta
- APUA.com. 2001. http://www.tufts.edu/med/apua/print/Q&A/Q&A_antibacterials.
_Akses 24_Maret 2008; 19:55
- Koran-nias.com. 2006. <http://www.koran-nias.com/manfaatrumputlaut.htm>. Akses
24_Maret 2008; 19:55
- Barus, T. A. 2002. *Pengantar Limnologi*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Medan
- Bauman, P.A.L., Furniss and I.V. Lee. 11984. *Facultative Anaerobic Gram Negative Rods : Genus I - Vibrio*. In : Kreieg N. R. and Holt J.G (Ed). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins Baltimore. USA .
- Bell, P.R., 1992. *Green Plant, Their Origin, and Diversity*. Dioscorides Press. Portland. Oregon.
- Chapman, V.J., and Chapman, D.J., 1980. *Seaweeds and Their Uses*. Third Edition.Chapman and Hall 150 th Anniversary . London- New York
- Cordover, R. 2007. *Seaweed Agronomy, Crooping in Inland Saline Groundwater Evaporation Basins. Rural Industries and Development Corporation*. Australia
- Dkp.go-id. 2006. *Pesona Rumput Laut Sebagai Sumber Devisa* html. <http://www.DKP-go.id/html>. Akses 24_Maret 2008; 19:55
- Effendi. H, 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius (Anggota IKAPI Effendi, 2003
- Eidman, H. M. 1991. *Studi Efektivitas Bibit Alga Laut (Rumput Laut)*. Salah Satu Upaya Meningkatkan Produksi Budidaya Alga Laut (*Euchema spp.*). Laporan Penelitian. Bogor. Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor
- Filzahazny. 2008. *Pengantar tentang bakteri*.[http.Filzahazny.wordpress.com/pengantar-tentang-bakteri/.html/](http://Filzahazny.wordpress.com/pengantar-tentang-bakteri/.html/). Akses 24_Maret 2008; 19:55
- Hadiwigeno, S. 1990. *Petunjuk Teknis Budidaya Rumput Laut*. Departemen Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta

- Harborne, J.W. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Modern Menganalisa Tumbuhan, terbitan ke-2*, Tejemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, ITB.Bandung
- Indobic.or.id. 2005. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. Indonesian Biotechnology Information Centre. www.indobic.or.id. Diakses tanggal 16 Maret 2009
- lptek.net. 2007. *Mekanisme Antibakteri*. www.lptek.net.id. Akses 24_Maret 2008; 19:55
- Jasuda.net. 2008. *Gracillaria verrucosa*. <http://www.jasuda.net>. Akses 24 Maret 2008; 19:55. Akses 24_Maret 2008; 19:55
- Jawelz, M. A. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Edisi 20*. EGC, Jakarta.
- Jawetz E, J.L Melnick and E.A Adelberg. 1982. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 14. Alih Bahasa : G Bonang. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Kordi K., M. Ghufuran H., dan A. B. Tancung. 2007. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta.
- Odum, E.P, 1993. *Dasar-dasar Ekologi, Edisi Ketiga*. Universitas Gajah Mada. University Press. Yogyakarta
- Lay, B.W. 1994. *Analisa Mikroba Di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lakare, C., 1997. *Mikrobiologi Kedokteran*. FKUH, Ujung Pandang
- Lenny, Sovia.2006. *Jurnal Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Fakultas MIPA UNSU. Medan
- Marzuki. 1992. *Metodologi Riset*. Bagian Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta
- Maryono, T dan Ginting, C. 2006. *Penghambatan Tujuh Jenis Ekstrak Air Kasar Terhadap Perkecambahan Urodospora Hemileia Vastatrix*. Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Lembaga Penelitian. Universitas Lampung
- Mayer A. M.S., Abimael D. R., Roberto G.S. B. and Mark T. H. 2007. *Marine pharmacology : Marine Compounds with Anthelmintic, Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti-inflammatory, Antimalarial, Antiplatelet, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting The Cardiovascular, Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms of Action*. National Institutes of Health. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. USA. pp. 553-581 <http://Hyperlink reference not valid..> Diakses tanggal 12 Oktober 2008

- Moekijat. 1994. *Metode Riset Dalam Penelitian*. Mandar Maju. Bandung.
- Mubarak, H., 1982. *Teknik Budidaya Rumput Laut*. Makalah Prosioding Pertemuan Teknis Budidaya Laut. Anyer, 10-13 Mei 1982.
- Nazir, M. 1985. *Metode Penelitian*. Ghalia. Jakarta
- Odum, E.P, 1993. *Dasar-dasar Ekologi*, Edisi Ketiga. Universitas Gajah Mada. University Press. Yogyakarta.
- Papalia, S., Yulianto, K. dan Renyaan, A., 1990. *Pentingnya Penelitian Potensi Rumput Laut di Perairan Indonesia Timur*. Buku Panduan dan Kumpulan Abstrak seminar Ilmiah Nasional Lustrum VII Fakultas Biologi UGM. Yogyakarta , 20-21 September 1990.
- Pelczar, M. J., Roger D. R., and Chan E. C. S. 1977. *Microbiology*. Mc Graw Hill Book Company, New York. USA
- Prajitno, A., Herawati, E.Y. dan Hariati, A.M. 1998. *Strategi Pengaturan Salinitas dan Pemberian Serbuk Jamur Merang sebagai Penanggulangan Penyakit Kunang-Kunang (Vibrio spp) pada Udang Windu di Mini Backyard*. Laporan Akhir Hasil Penelitian tidak diterbitkan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Rahardi,Sugeng Riyanto, dkk. 2000. *Hubungan antara Waktu Kadaluwarsa Ampisilina dengan Daya Hambat Pertumbuhan E. coli secara in vitro*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Keenam. Penerbit ITB. Bandung..
- Simanjuntak, P., 1995. *Senyawa Bioaktif dari Alga*. Hayati, Jurnal Biosains. Penerbit Jurusan Biologi FMMIPA, IPB, Bogor.
- Sri Winarsih dkk. 2008. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Kedokteran*. Lab.Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya. Malang
- Subarijanti, H.U.2000. *Ekologi Perairan*. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Sumich, J.L., 1980. *An Introduction to the Biology of marine Life*. Second Edition. Wm. C. Brown Company Publishers. Dubuque-Iowa
- Surachmad, W. 1985. *Pengantar Penelitian Ilmiah*. Penerbit Tarsito. Bandung
- Suryabrata, S. 1983. *Metode Penelitian*. Rajawali. Jakarta
- Susanto, 2008. APA YANG TERDAPAT DALAM RUMPUT LAUT?.html. Kelompok studi Rumput Laut Ilmu Kelautan Undip. <http://www.undip-ac.id/> Akses 24_Maret 2008; 19:55

- Suwandi, Jhons Fatriyadi. Mahardika A. W. dan Mustofa. 2008. *Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Antiplasmodium Ekstrak Daun Sungkai (Peronema Canescens) In Vitro*. Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008. Universitas Lampung
- Taslihan, A. 1986. *Petunjuk Umum Cara Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Air, Udang dan Ikan Air Payau*. Balai Budidaya Air Payau. Jepara. Hal 1-25.
- Trono, G. C. 1996. *A Review of the Culture of Glacilaria in Asia-Pasific and Direction for Future Development*. <http://www.fao.org/docrep/htm> . diakses pada tanggal 7 April 2008 pukul 16.00
- Volk, W. A and M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Editor : Soenartono Adisoemarto. Erlangga. Jakarta. 341 hal.
- Wibisono, M. S. 2005. *Pengantar Ilmu Kelautan*. Penerbit PT Grasindo. Jakarta.
- Yahya, Sukoso, Aulanni'am, Bagus S.B.U da J. Basmal. 2002. *Identifikasi dan Purifikasi Bioaktif Hasil Ekstrak Jaringan Tentakel Ubur-Ubur Laut sebagai Bakterisida Selektif untuk Vibrio harveyii Penyebab Penyakit pada Larva Udang*. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Vol. 14 –No.1.
- Yunizal. 2004. *Teknologi Pengolahan Alginat*. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Wikipedia. 2002. *Vibrio harveyi*. http://en.wikipedia.org/wiki/Vibrio_alginolyticus. Diakses tanggal 12 Juli 2008

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian



Autoclaf



Peralatan Mikrobiologi (1)



Inkubator



Spectrofotometer



Laminar Flow



Colony Counter



Peralatan Mikrobiologi (2)



Blender



Ekstrak *G. Verrucosa*



Pelarut Ekstraksi / Etanol



Rotary Evaporator



Vacuum Pump



Lampiran 2. Diagram Alir Prosedur Ekstraksi *G.verrusosa*

Dicuci, dipotong kecil-kecil, dikeringkan dengan oven, dihaluskan dengan blender

↓
Ditimbang sebanyak 100 gr (sample kering)

↓
Dimasukkan 100 gr sample kering ke dalam gelas erlenmeyer kering ukuran 1 lt

↓
Direndam dengan etanol sampai volume 900 ml

↓
Dikocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit), didiamkan hingga mengendap

↓
Diambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil

↓
Dimasukkan dalam labu evaporasi 1 lt

↓
Dipasang labu evaporasi pada evaporator

↓
Diisi water bath dengan air sampai penuh

↓
Dipasangkan semua rangkaian alat, termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (atur sampai 90°C), disambungkan dengan aliran listrik

↓
Dibiarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu

↓
Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu)

↓
Diperoleh kira-kira 1/3 dari bahan alam (*Gracillaria*) kering

↓
Dimasukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik, disimpan dalam freezer