

**DAYA HAMBAT EKSTRAK *Eucheuma cottonii* DENGAN
KONSENTRASI BERBEDA TERHADAP Bakteri *Vibrio harveyi***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN DAN KELAUTAN**

Oleh :
SILKA PRABOWO
NIM. 0910830114



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

MALANG

2013

**DAYA HAMBAT EKSTRAK *Eucheuma cottonii* DENGAN
KONSENTRASI BERBEDA TERHADAP Bakteri *Vibrio harveyi***

Oleh :

SILKA PRABOWO

NIM. 0910830114

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Dwi Setyawati, M.Kes

Ir. Darius M. Biotech

NIP: 19611022 198802 2 001

NIP. 19500531 198103 1 003

Tanggal :

Tanggal :

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Eko Waluyo S.Pi, M.Sc

Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS

NIP: 19800424 200501 1 001

NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal :

Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

NIP. 19600322 198601 1 001

Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 1 Agustus 2013

Mahasiswa

Silka Prabowo



UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT atas berkah, rahmat-Nya, penulis bisa menyelesaikan Laporan Skripsi ini. Laporan Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Dalam penyusunan Laporan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Ucapan terimakasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi suri tauladan sehingga penulis mendapatkan semangat tersendiri dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Bapak Ir. Darius M. Biotech selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dengan penuh kesabaran sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
4. Bapak dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
5. Ayah, Ibu, dek Goldi, serta segenap anggota keluarga yang telah memberi dorongan semangat dan doa.
6. Sahabat-sahabat sepatu kaca Revi, Disti, Novi, Ayu, Jum dan anak sepatu kaca semuanya, terima kasih atas dorongan semangat dan kebersamaannya.
7. Sahabat-sahabat seperjuangan Dista, Vilda, Rere, Beng, Aming, Esci, Rani, Sefty, Ghanis, Rani jakarta, Qirung, Ichal, Indri, Lutfi, Imam, Bang Roy, Dewi, Mutia dan teman-teman semuanya yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah membantu dengan sepenuh hati, memberi semangat, berbagi informasi, dan berjuang bersama dalam suka dan duka.

8. Segenap tim antibakteri dan keluarga besar THP 2009 tercinta yang selalu kompak dan menjadi motivator dalam penyelesaian laporan skripsi ini.

9. Ibu Titin dan Ibu Iwin selaku Laboran laboratorium yang saya gunakan untuk penelitian, terima kasih atas bantuan dan kerja samanya dalam proses penelitian dan pembuatan laporan skripsi ini.

Laporan Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran sangat penulis harapkan. Penulis berharap Laporan skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pihak yang membutuhkan.

Malang, 1 Agustus 2013

Penulis



SILKA PRABOWO (NIM 0910830114). Skripsi Tentang Daya hambat Ekstrak *Eucheuma cottonii* Dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* (di bawah bimbingan **Ir. Darius M. Biotech** dan **Dr. Ir. Hartati Kartika N., MS**)

Penyakit pada udang merupakan penyakit yang banyak dijumpai pada usaha budidaya udang, penyakit ini juga dapat menimbulkan kerugian yang tidak sedikit. Salah satu penyebab penyakit pada udang adalah *Vibrio harveyi*. Sehingga diperlukan upaya untuk mendapatkan bahan alami yang dapat digunakan sebagai suplemen pakan yang mempunyai fungsi mengendalikan bakteri patogen. Salah satu sumber bahan alami yang memiliki bioaktif terdapat dalam alga merah jenis *Eucheuma cottonii*. Alga merah jenis ini diketahui sebagai alga merah (*Rhodophyceae*) yang ditemukan di bawah air surut rata-rata. Alga ini mempunyai talus yang keras, silindris dan berdaging. Sejak 2700 SM, *Eucheuma cottonii* telah digunakan oleh bangsa Cina sebagai bahan sayuran, obat-obatan dan kosmetik. Sedangkan di Indonesia digunakan sebagai bahan sayuran, kue, manisan dan obat. Sehingga diperlukan upaya untuk mendapatkan antibakteri dari bahan alami.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *Eucheuma cottonii* terbaik untuk menghambat *V. harveyi* serta mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam *E. cottonii*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang pada Februari – Mei 2013.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Dalam penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian adalah ekstrak bioaktif *E. cottonii*. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktorial dengan 4 ulangan. Faktor pertama adalah penggunaan bioaktif *E. cottonii* dan antibiotik ampicilin. Faktor kedua adalah konsentrasi berbeda (400 ppm, 800 ppm, 1600 ppm).

Berdasarkan hasil analisis data dengan menggunakan uji F diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Eucheuma cottonii*, maka semakin luas daya hambat yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 1,78 mm pada konsentrasi 1600 ppm. Hasil analisis dengan metode GC-MS, diduga terdapat 6 senyawa antibakteri yang terekstrak dari *E. cottonii*, antara lain *3-hexadecene*, *3-tetradecene*, *3-octadecene*, *3-eicosene*, *9-eicosene* dan *1-nonadecane*. Senyawa-senyawa tersebut digolongkan sebagai senyawa alkena. Berdasarkan gugus fungsi, yang memiliki aktivitas antibakteri merupakan senyawa yang berasal dari golongan alkena. Sedangkan senyawa yang terdeteksi sebagai flavonoid adalah senyawa eugenol.

Disarankan pada penelitian selanjutnya agar digunakan ekstrak murni dari *Eucheuma cottonii* dengan konsentrasi yang lebih tinggi, agar dihasilkan daya hambat luas yang dapat bersifat sebagai antibiotik.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Usulan Skripsi dengan judul "Daya Hambat Ekstrak *Eucheuma cottonii* Dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*". Usulan Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh izin untuk mengerjakan Skripsi di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan ini tidak akan tersusun tanpa bantuan dari berbagai pihak, rasa hormat dan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa mengabulkan do'a saya serta selalu ada dimanapun itu.
2. Ayah dan Ibu tercinta atas segala doa, kasih sayang, pengertian dan pengorbanan tak ternilai yang telah kalian berikan.
3. Bapak Darius dan Ibu Hartati selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, pengarahan, dan masukan.
4. Pihak-pihak yang memberikan doa dan dukungannya, terima kasih banyak.

Penulis menyadari bahwa dalam usulan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, sehingga adanya kritik dan saran dari pembaca nantinya kami harapkan dapat menambah kesempurnaan laporan ini. Akhirnya, semoga dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bagi kami pribadi dan pembaca.

Malang, 1 Agustus 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINILITAS	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	3
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
1.6 Tempat dan Waktu.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Alga	5
2.2 <i>Eucheuma cottonii</i>	5
2.3 Pelarut.....	7
2.3.1 Heksan.....	9
2.3.2 DMSO (<i>Dimethyl-sulfoxide</i>)	10
2.4 Ekstraksi	11
2.5 Senyawa Bioaktif	12
2.6 Antibakteri	12
2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram)	13
2.6.2 Bakteri Uji Gram Negatif	14
2.6.2.1 <i>Vibrio harveyii</i>	15
2.6.3 Pemisahan	16
2.6.3.1 Kromatografi Kolom	17
2.7 Identifikasi Senyawa Bioaktif	17
2.7.1 Spektrofotometer <i>Ultraviolet Visible</i> (UV-Vis)	18
2.7.2 Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infrared</i> (FT-IR)	18
2.7.3 Uji GC-MS	19
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	21
3.1 Materi Penelitian	21
3.1.1 Bahan Penelitian	21
3.1.2 Alat Penelitian	22
3.2. Metode Penelitian	22
3.2.1 Metode Eksperimen	22
3.2.2 Parameter Uji	24
3.2.3 Analisis Data	25
3.3 Prosedur Penelitian	25
3.3.1 Pembuatan Ekstrak <i>Eucheuma cottonii</i>	25
3.3.2 Uji Cakram.....	27

3.3.3 Metode Pemisahan atau Partisi (Kromatografi Kolom)	27
3.3.4 Pengujian Spektrofotometer <i>Ultraviolet Visible</i> (UV-Vis)	28
3.3.5 Pengujian Spektrofotometer FT-IR	29
3.3.6 Uji GC-MS.....	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Penelitian Pendahuluan	33
4.2. Penelitian Utama	35
4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri	36
4.2.2 Identifikasi Senyawa Bioaktif	41
4.3 Pembahasan	48
4.3.1 Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri	48
4.3.2 Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri.....	49
5. KESIMPULAN DAN SARAN	51
4.1 Kesimpulan	51
4.2. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	56



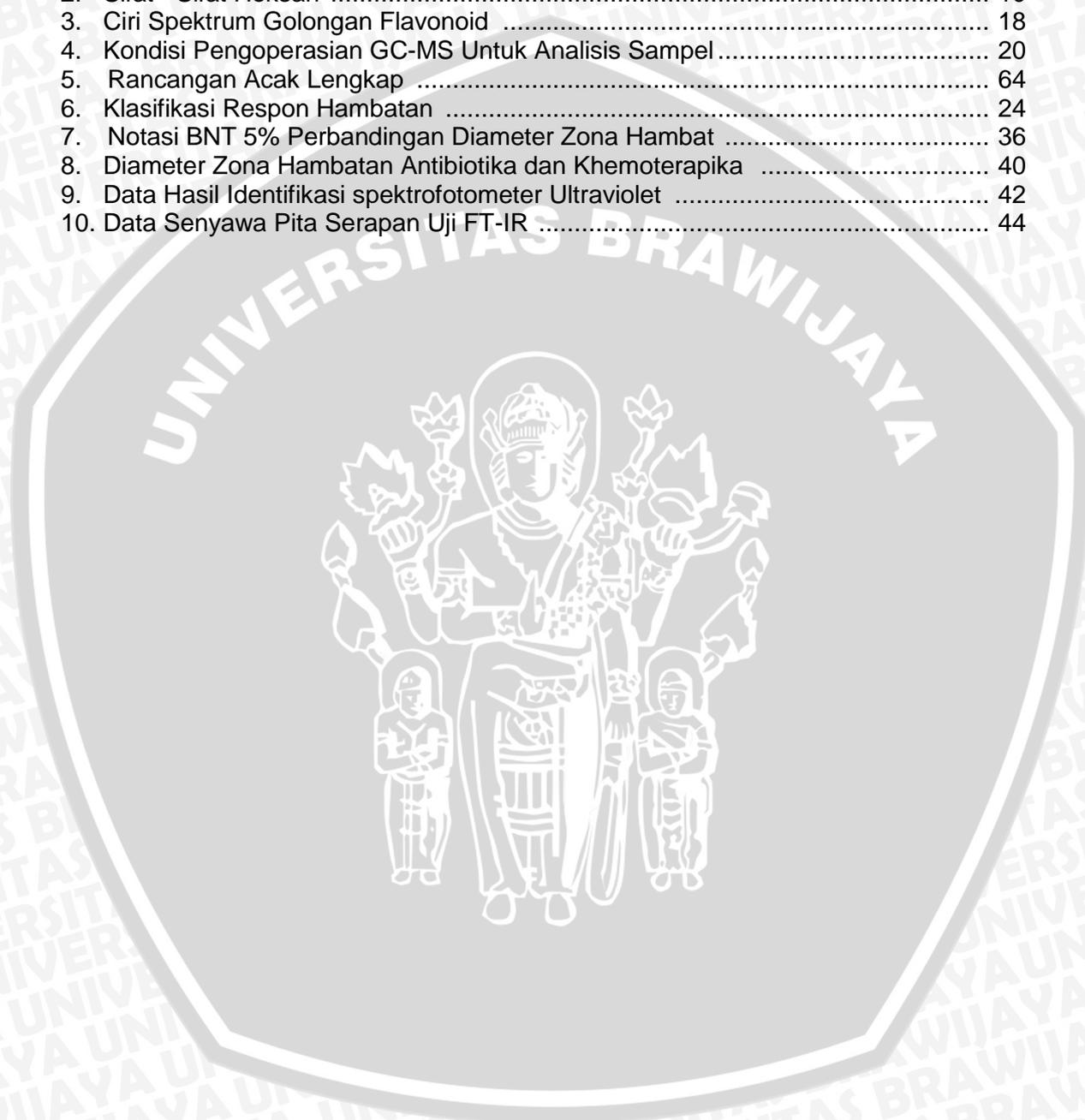
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Eucheuma cottonii</i>	6
2. Rumus Molekul dan Rumus Bangun Heksan	9
3. <i>Vibrio harveyii</i>	16
4. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Rumpun Laut <i>Eucheuma cottonii</i>	26
5. Aktivitas Daya Hambat dari Pelarut N-heksan dan Etanol	34
6. Hasil Ekstraksi dari <i>Eucheuma cottonii</i> dengan Pelarut N-heksan	35
7. Perbandingan Zona Hambat Ekstrak <i>E. cottonii</i>	37
8. Struktur Flavonoid	38
9. Sub fraksi N-heksan : Etil asetat <i>Eucheuma cottonii</i>	41
10. Kromatografi Kolom N-heksan: Etil asetat <i>Eucheuma cottonii</i>	41
11. Hasil Identifikasi Spektrofotometer Ultraviolet Senyawa Bioaktif	42
12. Hasil Spektrofotometer Inframerah Senyawa Bioaktif <i>E. cottonii</i>	43
13. Struktur Flavon	44
14. Hasil Analisis Uji GC-MS Ekstrak <i>E. cottonii</i>	45
15. Struktur Kimia Senyawa	46
16. Struktur Molekul Alkena	47



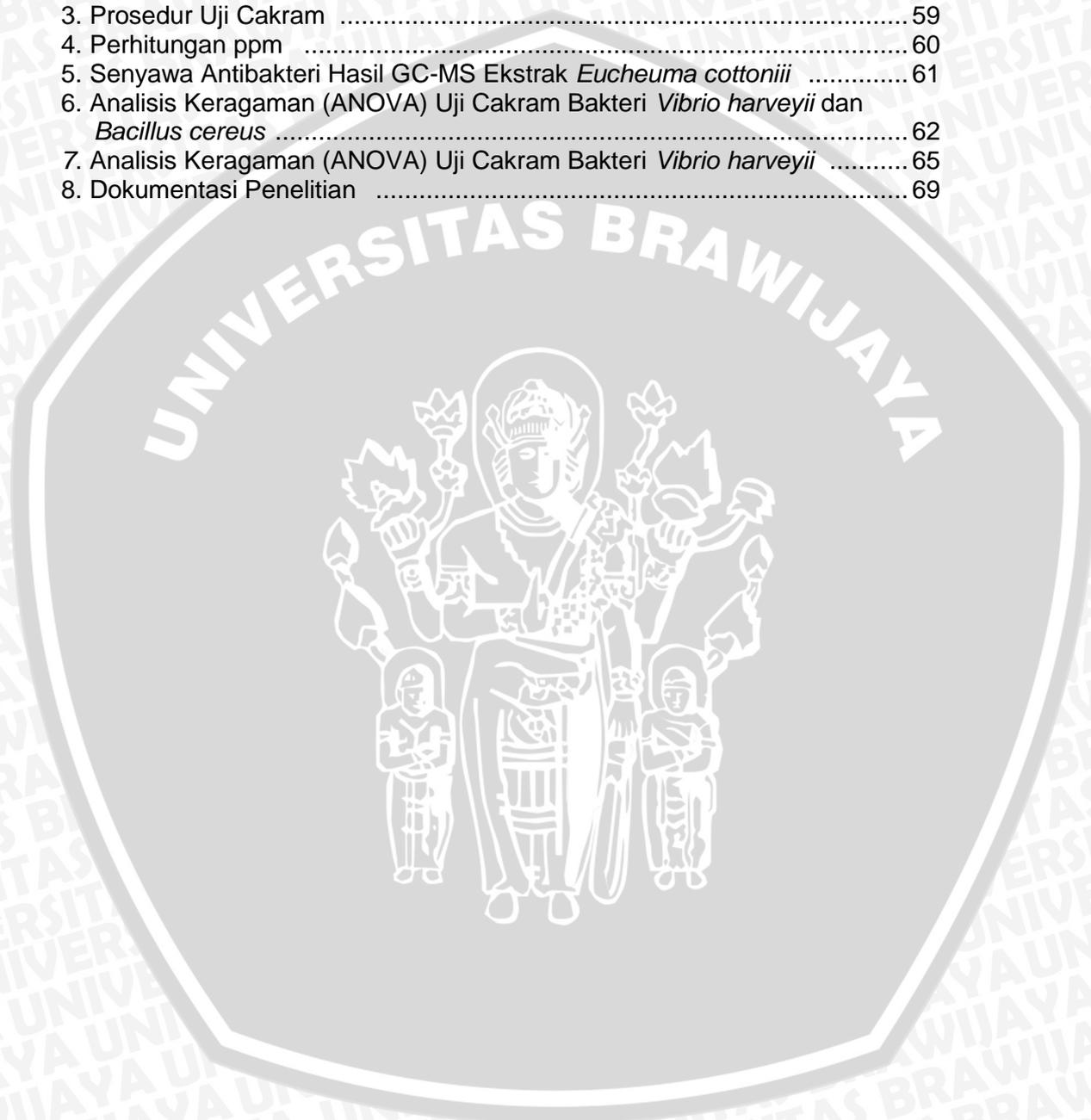
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis-Jenis Pelarut Untuk Ekstraksi Komponen Aktif	9
2. Sifat - Sifat Heksan	10
3. Ciri Spektrum Golongan Flavonoid	18
4. Kondisi Pengoperasian GC-MS Untuk Analisis Sampel	20
5. Rancangan Acak Lengkap	64
6. Klasifikasi Respon Hambatan	24
7. Notasi BNT 5% Perbandingan Diameter Zona Hambat	36
8. Diameter Zona Hambatan Antibiotika dan Khemoterapika	40
9. Data Hasil Identifikasi spektrofotometer Ultraviolet	42
10. Data Senyawa Pita Serapan Uji FT-IR	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Pembuatan Media TCBSA.....	57
2. Prosedur Pembuatan Media MHA	58
3. Prosedur Uji Cakram	59
4. Perhitungan ppm	60
5. Senyawa Antibakteri Hasil GC-MS Ekstrak <i>Eucheuma cottoniii</i>	61
6. Analisis Keragaman (ANOVA) Uji Cakram Bakteri <i>Vibrio harveyii</i> dan <i>Bacillus cereus</i>	62
7. Analisis Keragaman (ANOVA) Uji Cakram Bakteri <i>Vibrio harveyii</i>	65
8. Dokumentasi Penelitian	69



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit pada udang merupakan salah satu penyakit yang dapat menimbulkan kerugian yang tidak sedikit. Selain dapat menimbulkan kematian massal dalam waktu yang relatif singkat, penyakit ini juga dapat menurunkan kualitas daging udang yang terinfeksi. Salah satu penyebab penyakit pada udang adalah *Vibrio harveyi*.

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1993), bakteri *Vibrio harveyi* adalah suatu jenis bakteri Gram-negatif yang mempunyai suatu tangkai yang bentuknya bengkok dan biasanya ditemukan di air laut, tawar dan payau. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob positif dan tidak membentuk spora, bentuk sel batang dengan ukuran panjang antara 2 – 3 μm dan lebar 0,3 – 1,3 μm dan mempunyai flagella pada ujung sel. Ditambahkan menurut Prajitno (2007), bakteri *Vibrio harveyi* dapat bertahan hidup, tumbuh dan berkembang pada batas-batas suhu tertentu. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp berkisar antara 30-35 $^{\circ}\text{C}$, sedangkan pada suhu 4 $^{\circ}\text{C}$ dan 45 $^{\circ}\text{C}$ bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ akan mati.

Cara penanggulangan penyakit ini dapat menggunakan antibiotik. Pemberian antibiotik dapat dilakukan dengan cara dicampurkan dengan pakan, untuk mengendalikan patogen di dalam saluran pencernaan dan tubuh udang. Akan tetapi hal ini justru berdampak kontraproduktif karena menyebabkan terjadinya residu antibiotik dalam jaringan yang menyebabkan penurunan kualitas produk, yaitu penurunan nilai keamanan makanan. Residu antibiotik dapat berpindah ke tubuh manusia yang mengkonsumsinya, sehingga diperlukan upaya untuk mendapatkan bahan alami yang dapat digunakan sebagai suplemen

pakan yang mempunyai fungsi mengendalikan bakteri patogen (Riniatsih dan Wilis, 2009).

Salah satu sumber bahan alami yang memiliki bioaktif terdapat dalam alga merah jenis *Euचेuma cottonii*. Alga merah jenis ini diketahui sebagai alga merah (*Rhodophyceae*) yang ditemukan di bawah air surut rata-rata. Alga ini mempunyai talus yang keras, silindris dan berdaging. Sejak 2700 SM, *Euचेuma cottonii* telah digunakan oleh bangsa Cina sebagai bahan sayuran, obat-obatan dan kosmetik. Sedangkan di Indonesia digunakan sebagai bahan sayuran, kue, manisan dan obat-obatan (Indriani dan Suminarsih, 2003). Sehingga diperlukan upaya untuk mendapatkan antibakteri dari bahan alami.

Penelitian tentang antibakteri dari bahan alami terhadap *Vibrio harveyii* telah dilakukan oleh Reskika (2011), yang meneliti uji aktivitas antibakteri ekstrak alga coklat (*Phaeophyceae*) dan alga hijau (*Chlorophyceae*) terhadap bakteri *Vibrio harveyii*. Wiyanto (2010), meneliti uji aktivitas antibakteri ekstrak alga merah (*Euचेuma denticullatum*) terhadap bakteri *Vibrio harveyii*.

Walaupun akhir-akhir ini penelitian tentang antibakteri dari bahan alami terhadap *Vibrio harveyii* telah dilakukan, namun masih sangat sedikit informasi yang menyebutkan penggunaan *E.cottonii* sebagai antibakteri alami terhadap *V. harveyii*. Oleh karena itu dibutuhkan kajian yang lebih dalam mengenai antibakteri dari bahan alami, salah satunya dengan *E.cottonii*. *E.cottonii* menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan *V. harveyii*, sedangkan untuk mendapatkan antibakteri yang menghambat pertumbuhan *V. harveyii* dibutuhkan konsentrasi terbaik dalam ekstrak *E.cottonii*. Penelitian ini bertujuan untuk pemanfaatan alga merah jenis *E. cottonii* sebagai antibakteri terhadap *V. harveyii* pada pakan udang dengan konsentrasi ekstrak terbaik.

1.2 Rumusan Masalah

Pemanfaatan *Eucheuma cottonii* masih memerlukan kajian yang meliputi:

- Pada konsentrasi berapa *Eucheuma cottonii* dapat menghasilkan antibakteri terbaik terhadap *Vibrio harveyii*?
- Senyawa apa saja yang terkandung pada ekstrak *Eucheuma cottonii*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

- Mendapatkan konsentrasi ekstrak *Eucheuma cottonii* terbaik untuk menghambat *Vibrio harveyii*.
- Mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak *Eucheuma cottonii*.
-

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

- Semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Eucheuma cottonii* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyii*.
- Senyawa bioaktif dalam *Eucheuma cottonii* berpotensi menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyii*.

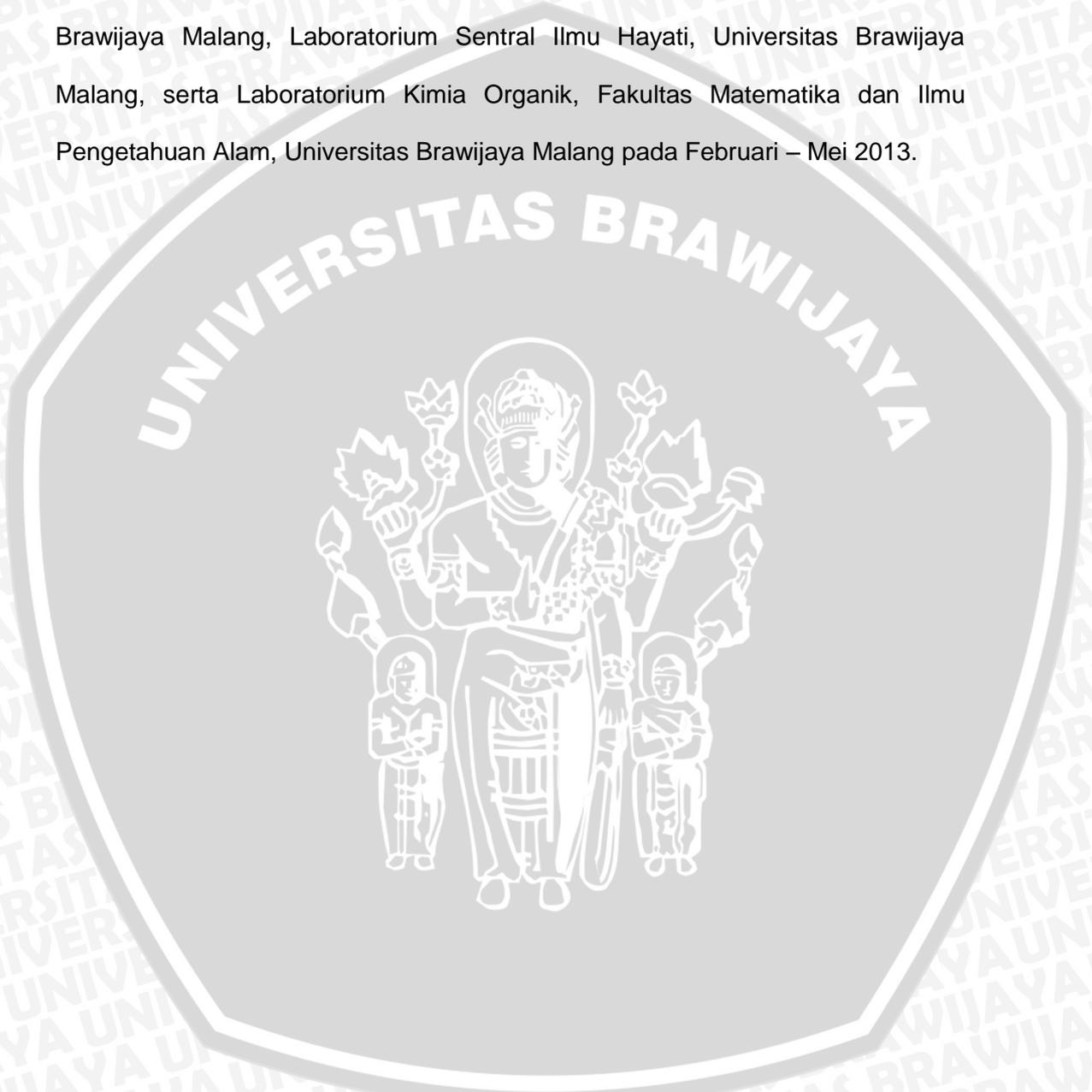
1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

- Memberikan informasi kepada masyarakat, petani tambak, pengusaha, dan peneliti tentang kegunaan rumput laut merah spesies (*Eucheuma cottonii*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyii*.
- Masyarakat dapat memanfaatkan rumput laut merah khususnya *Eucheuma cottonii* sebagai antibakteri alami yang potensial.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang, serta Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang pada Februari – Mei 2013.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga

Alga umumnya terdiri dari alga merah, alga coklat, alga hijau yang tumbuh tersebar di perairan laut Indonesia terutama di daerah terumbu karang. Jenis-jenis yang dimanfaatkan di Indonesia masih terbatas kepada agarofit (pengasil agar), karaginoFit (penghasil karaginan), dan sebagian kecil alga hijau (misal *Caulerpa*) yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai lalapan. Beberapa jenis agarofit dan karaginoFit dewasa sekarang bukan saja sebagai kebutuhan konsumsi dan industri dalam negeri, tetapi juga merupakan bahan dagangan ekspor untuk memasok kebutuhan pasar dunia (Manik dan Atmadja, 2004).

Alga telah lama digunakan sebagai bahan makanan dan obat-obatan secara tradisional, karena alga kaya akan mineral, elemen makro dan elemen mikro lainnya. Beberapa jenis alga yang mengandung mineral penting yang berguna untuk metabolisme tubuh seperti iodin, calcium, dan selenium (Burtin, 2006). Di Jepang, alga merupakan menu sehari-hari, sehingga orang Jepang jarang sekali terkena penyakit kanker dibanding orang Jepang yang telah bermigrasi ke Amerika di mana rumput laut tidak lagi menjadi menu harian mereka (Arabei, 2000).

2.2 *EuCheuma cottonii*

Menurut Doty (1985), *EuCheuma cottonii* merupakan salah satu jenis alga merah (*Rhodophyceae*) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karaginan yang dihasilkan termasuk fraksi kappa-karaginan. Maka jenis ini secara taksonomi disebut *Kappaphycus alvarezii*. Nama daerah '*cottonii*' umumnya lebih dikenal dan biasa dipakai dalam dunia perdagangan nasional

maupun internasional. Klasifikasi *Eucheuma cottonii* menurut Doty (1985), adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Rhodophyta
Kelas : Rhodophyceae
Ordo : Gigartinales
Famili : Solieracea
Genus : *Eucheuma*
Species : *Eucheuma cottonii*.



Gambar 1. *Eucheuma cottonii*

Ciri fisik *Eucheuma cottonii* adalah mempunyai thallus silindris, permukaan licin, cartilogeneus. Keadaan warna tidak selalu tetap, kadang kadang berwarna hijau, hijau kuning, abu-abu atau merah. Perubahan warna sering terjadi hanya karena faktor lingkungan. Kejadian ini merupakan suatu proses adaptasi kromatik yaitu penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan (Aslan, 2006). Penampakan thalli bervariasi mulai dari bentuk sederhana sampai kompleks. Duri-duri pada thallus runcing memanjang, agak jarang-jarang dan tidak bersusun melingkari thallus. Percabangan ke berbagai arah dengan batang-batang utama keluar saling berdekatan ke daerah basal (pangkal). Tumbuh melekat ke substrat dengan alat perekat berupa cakram. Cabang-cabang pertama dan kedua tumbuh dengan membentuk rumpun yang rimbun dengan ciri khusus mengarah ke arah datangnya sinar matahari (Atmadja, 2004).

Eucheuma cottonii telah dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai bahan makanan untuk sayuran atau manisan. Ditambahkan menurut Arabei (2000), rumput laut bermanfaat untuk membersihkan usus, memperbaiki proses pencernaan dan penyerapan sari makanan serta memperbaiki peristaltik usus. Rumput laut juga merupakan sumber vitamin B, C dan E. kedua jenis rumput laut merah yang mengandung pigmen fikokserin, karotenoid, klorofil a, senyawa organik dan anorganik dan serat kasar.

Umumnya *Eucheuma cottonii* tumbuh dengan baik di daerah pantai terumbu (reef). Habitat khasnya adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap, variasi suhu harian yang kecil dan substrat batu karang mati (Aslan, 2006).

Beberapa jenis *Eucheuma* mempunyai peranan penting dalam dunia perdagangan internasional sebagai penghasil ekstrak karaginan. Kadar karaginan dalam setiap spesies *Eucheuma* berkisar antara 54 – 73 % tergantung pada jenis dan lokasi tempat tumbuhnya. Jenis ini asal mulanya didapat dari perairan Sabah (Malaysia) dan Kepulauan Sulu (Filipina). Selanjutnya dikembangkan ke berbagai negara sebagai tanaman budidaya. Lokasi budidaya rumput laut jenis ini di Indonesia antara lain Lombok, Sumba, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Lampung, Kepulauan Seribu, dan Perairan Pelabuhan Ratu (Atmadja, 1996).

Ekstrak kasar alga merah jenis *Eucheuma cottonii* bersifat bakteristatik karena hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Myeek (2001), bahwa suatu antimikroba bersifat bakteristatik jika senyawa antimikroba tersebut hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri jika pemberian senyawa terus dilakukan dan jika dihentikan atau habis, maka pertumbuhan dan perbanyakannya dari bakteri akan kembali meningkat yang ditandai dengan berkurangnya diameter zona hambatan pada masa inkubasi kedua. Sebaliknya bersifat bakteriosida jika diameter zona hambatan meningkat pada masa

inkubasi kedua, hal ini disebabkan karena senyawa ini mampu membunuh dan menghentikan aktivitas fisiologis dari bakteri, meskipun pemberian senyawa tersebut dihentikan.

2.3 Pelarut

Konsentrasi jenuh larutan selama ekstraksi dipengaruhi oleh banyaknya pelarut yang akan digunakan, makin banyak pelarut yang digunakan makin banyak zat terlarut yang terekstrak. Salah satu ciri penting pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat atau senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan / kutub dalam ruangan hampa dengan gaya yang bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut (Komara, 1991). Ditambahkan menurut Susanto (1999), jumlah pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, tetapi jumlah yang berlebihan tidak akan mengestak lebih banyak, dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal.

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : murah dan mudah diperoleh bereaksi netral, tidak mudah menguap, dan tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Pada penelitian digunakan beberapa pelarut berdasarkan tingkat kepolaran, yaitu aquades, metanol, etanol, dan aseton (Ummah, 2010).

Menurut Hikmah (2007), ada dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut, yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut yang tidak berbahaya atau tidak beracun. Pelarut yang paling aman adalah etanol. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil diklorida, etanol, heksana, isopropyl alcohol, dan metanol. Secara umum ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-

heksan) lalu pelarut yang kepolarannya menengah (diklorometan atau etil asetat) kemudian pelarut yang bersifat polar (metanol atau etanol).

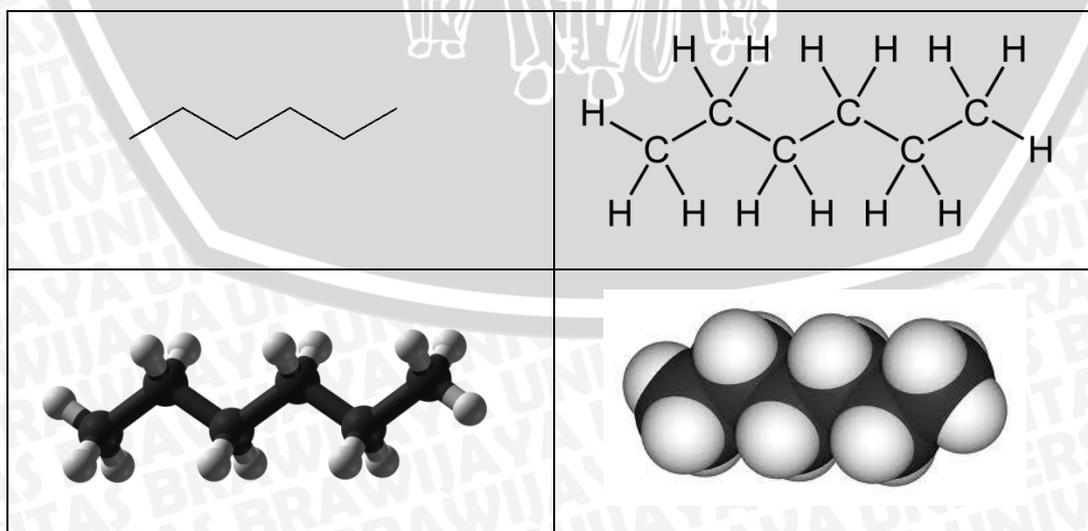
Tabel 1. Jenis-Jenis Pelarut Untuk Ekstraksi Komponen Aktif

Air	Etanol	Metanol	Kloroform	Heksana	Eter	Aseton
Antosianin Flavonol Pati Tanin Saponin Terpenoid Polipeptida Lectin	Tanin Polipenol Poliasetilen Flavonol Terpenoid Sterol Alkaloid Propolis	Antosianin Terpenoid Saponin Tanin Xanthosillin Totarol Quassinoid Lakton Flavon Phenone Polifeno	Terpenoid Flavonoid	Alkaloid Flavonoid Saponin Triterpenoid Tanin	Terpenoid	Alkaloid Terpenoid Coumarin Asam Lemak

Sumber: (Kusumaningtyas, 2008).

2.3.1 Heksan

Heksan merupakan pelarut organik bersifat non polar. Pelarut heksan banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa polar (Cannell, 1998). Heksan memiliki rumus molekul C_6H_{14} , berat jenis 0,6548 g/ml dalam keadaan cair, daya larut dalam air 13 mg/L at $20^\circ C$, titik didih $69^\circ C$ (342 K), dan titik beku $-95^\circ C$ (178 K). Rumus molekul dan rumus bangun heksan dapat dilihat pada Gambar 2 dan sifat-sifat heksan dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Rumus molekul dan rumus bangun heksan (Googleimage^b, 2013).

Heksan adalah konstituen yang berpengaruh nyata dalam bensin. Mereka adalah cairan yang tidak berwarna pada suhu ruang, dengan titik didih antara 50°-70° C, dengan bau seperti bensin. Digunakan secara luas sebagai barang yang murah, relatif aman, sebagian besar tidak reaktif, sangat mudah menguap, dan merupakan pelarut non polar (Wikipedia, 2013).

Tabel 2. Sifat – Sifat Heksan

No	Karakteristik	Heksan
1	Nama lain	<i>n-Hexane</i>
2	Rumus Bangun	C_6H_{14}
3	Sifat	Mudah terbakar, berbahaya bagi lingkungan
4	Berat molekul	86,18 g / mol
5	Titik leleh	-95° C (178 K)
6	Titik didih	69° C (342 K)
7	Massa molar	58,08 g / mol
8	Kelarutan	13 mg / L pada 20° C
9	Densitas	0,6548 g / mL, cairan

Sumber : (Wikipedia^p , 2013).

2.3.2 DMSO (*Dimethyl-sulfoxide*)

Menurut Hastari (2012), faktor lain yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri adalah pelarut ekstrak. Salah satu zat yang sering digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah *Dimethyl-sulfoxide* (DMSO). *Dimethyl-sulfoxide* (DMSO) merupakan salah satu pelarut dalam uji antibakteri maupun uji antifungal suatu ekstrak atau obat baru. Penelitian ini menggunakan dimethyl-sulfoxide dengan konsentrasi 10 %, karena pada konsentrasi ini DMSO tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Ditambahkan oleh Handayani, *et al.*, (2013), DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar.

2.4 Ekstraksi

Pengembalian bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya (Sjahid, 2008). Ditambahkan menurut Harborne (2006), prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering biji kering, akar daun ialah dengan mengekstraksi sinambung serbuk dengan alat soxhlet menggunakan sederetan pelarut secara berganti-ganti, mulai dengan eter, lalu eter minyak bumi dan kloroform (untuk memisahkan lipid dan terpenoid. Kemudian digunakan alkohol dan estilasetat (untuk senyawa yang lebih polar). Ekstrak yang pekat mungkin mengkristal bila dibiarkan. Bila hal ini terjadi, ekstrak harus disaring dan keseragamannya diuji dengan kromatografi dengan menggunakan beberapa pengembang.

Ekstraksi digolongkan ke dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair padat, ekstraksi cair padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi dan ekstraksi sinambung (Harborne, 1987). Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan yang dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali (Sa'ad, 2009).

Faktor-faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi antara lain ukuran bahan, waktu kontak antara bahan dengan pelarut dan suhu ekstraksi. Faktor lain yang menentukan hasil ekstraksi adalah perbandingan antara sampel terhadap cairan pengekstraksi (jumlah bahan pengekstraksi) dan jangka waktu di mana sampel kontak dengan cairan pengekstraksi (waktu ekstraksi).

2.5 Senyawa Bioaktif

Bioaktif adalah zat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang memiliki manfaat kesehatan dalam tubuh. Ditinjau secara biologi, alga merupakan kelompok tumbuhan yang berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. Alga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif (Simanjuntak, 1995).

Banyaknya senyawa bioaktif dari alga dapat digunakan sebagai sumber bahan obat-obatan. Alga hijau, alga merah ataupun alga coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi seperti sebagai anti bakteri dan anti kanker. Selain itu, dalam industri agrokimia juga dapat dimanfaatkan untuk fungisida dan herbisida. 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. Namun pemanfaatan sumber bahan bioaktif dari alga belum banyak dilakukan (Eri, 2007).

2.6 Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektif, berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri, tetapi relatif tidak membahayakan bagi hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisida). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat

meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 1995).

Menurut Jawetz, *et al.*, (1995), antimikroba yang ideal harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut: (1) mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas (*broad spectrum antibacteria*), (2) tidak menimbulkan efek samping (*side effect*) yang buruk pada tubuh, seperti reaksi alergi, kerusakan syaraf, iritasi lambung, dan sebagainya, serta (4) tidak mengganggu keseimbangan flora normal tubuh seperti flora usus atau flora kulit.

Menurut Pradhika (2008), mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat ataupun membunuh bakteri adalah sebagai berikut: (1) menghambat sintesis dinding sel, (2) merusak permeabilitas membran sel, (3) menghambat sintesis RNA (proses transkripsi), serta (4) menghambat sintesis protein (proses translasi penghambat replikasi DNA).

2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram)

Penentuan aktivitas antimikroba suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan bila terpenuhi tiga syarat, yaitu (1) ekstrak tanaman harus bisa kontak dengan dinding sel mikroorganisme, (2) kondisi pengujian diatur sedemikian rupa sehingga mikroorganisme dapat tumbuh saat tidak ada bahan antimikroba, dan (3) ada parameter ukur tingkat pertumbuhan mikroorganisme (Hostettmann, 1991). Banyak metode yang dapat diterapkan untuk menentukan aktivitas antimikroba dimana masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan.

Beberapa bahan antimikroba tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antimikroba bersifat menghambat apabila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Salah satu cara untuk menguji bahan antimikroba dapat dilakukan dengan uji cakram. Uji cakram diperkenalkan oleh

William Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).

Lebar daerah hambatan ini tergantung pada konsentrasi obat yang digunakan. Cakram ini bisa untuk menggolongkan pengaruh obat antimikroba yaitu sensitif (S) dan resisten (R), *intermediate* (I). Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh ada pergeseran sedikitpun dan pengukuran diameter daerah hambatan dalam milimeter (Bonang dan Koeswardono). Ditambahkan menurut Lay (1994), adapun cara peletakkan kertas cakram dengan petridis minimal 15 mm dan jika jumlah cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram minimal 24 mm.

2.6.2 Bakteri Uji Gram Negatif

Bakteri gram negatif mempunyai selaput luar yang mengandung lipopolisakarida serta pelapis peptidoglikan yang tipis yang terletak di dalam periplasma (kawasan antara selaput luar dan selaput sitoplasma), dan berlapis tiga (multi). Flagelum terikat di ujung sel (flagela monotrikus), dan terletak di seputar sel (flagela peritrikus). Tidak terdapat asam teikoat (Pelezar dan Chan, 1986).

Efektivitas antibakteri untuk setiap bakteri tidak sama, karena masing-masing bakteri memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Struktur dinding sel bakteri Gram positif berbeda dengan bakteri Gram negatif. Pada bakteri Gram positif mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan teikuronat. Bakteri Gram negatif memiliki lapisan di luar dinding sel yang mengandung 5 -10% peptidoglikan, selain itu juga terdiri dari protein, lipopolisakarida dan lipoprotein. Bakteri Gram negatif mempunyai dua lapisan

lipid (*bilayer lipid*) yang disebut lapisan lipopolisakarida (LPS). Lapisan ini tersusun atas fosfolipid, polisakarida dan protein (Madigan, *et al.*, 2003). Bakteri Gram negatif memiliki dua lapisan lipid yang dipisahkan oleh peptidoglikan. Ada juga *outer membrane* yang menempel pada lapisan lipopolisakarida memperkuat sel dan melindungi dari lingkungan luar. Pada membran ini ada porin dengan diameter 1-2 nm yang mengatur akses larutan ke membran sitoplasma (Moat, *et al.*, 2002).

Hasil penelitian dengan menggunakan bakteri uji *V. harveyii* sebagai gram negatif menunjukkan adanya perbedaan hambatan pertumbuhan *V. harveyii*. Hal ini disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. Dinding sel bakteri gram negatif berisi tiga komponen yaitu lipoprotein membran terluar yang mengandung molekul protein yang disebut porin dan lipopolisakarida. Porin pada membran terluar dinding sel bakteri gram negatif tersebut bersifat hidrofilik. Kemungkinan porin yang terkandung pada membran terluar tersebut menyebabkan molekul-molekul komponen ekstrak lebih sukar masuk ke dalam sel bakteri. Hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat dari porin dan komponen ekstrak, dimana porin bersifat hidrofilik sedangkan ekstrak bersifat hidrofobik. Perbedaan dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif (Iskandar, *et al.*, 2012).

Menurut Dwyana dan Johannes (2013), dinding sel bakteri gram negative berisi tiga komponen yaitu lipoprotein membran terluar yang mengandung molekul protein yang disebut porin dan lipopolisakarida. Porin pada membran terluar dinding sel bakteri gram negatif tersebut bersifat hidrofilik. Kemungkinan porin yang terkandung pada membran terluar tersebut menyebabkan molekul komponen ekstrak lebih sukar masuk ke dalam sel bakteri. Hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat dari porin dan komponen ekstrak, dimana porin bersifat hidrofilik sedangkan ekstrak bersifat hidrofobik.

2.6.2.1 *Vibrio harveyii*

Vibrio harveyii merupakan bakteri Gram negatif yang sering menyebabkan gangguan kesehatan pada larva udang. Tingginya mortalitas larva di panti benih udang kebanyakan dikarenakan *Luminescent vibriosis* yang disebabkan oleh *Vibrio harveyii* atau *Vibrio splendidus* (Jay, 2000).

Menurut Breed, *et al.*, (1998) *Vibrio harveyii* diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies: *Vibrio harveyii*.



Gambar 3. *Vibrio harveyii* (Googleimage^a, 2013).

Menurut Elfahrybimantara (2009), banyak vibrio yang merupakan *zoonotic*, menyebabkan penyakit pada ikan dan *shellfish*, dan penyebab umum kematian antar kehidupan laut domestik. Vibriosis adalah salah satu penyakit paling utama pada budidaya ikan dan *shellfish* laut. *Vibrio* menyerang benih (*fingerlings*), juvenil dan ikan dewasa; serangan terjadi April atau Oktober ketika temperatur air berkisar 24° - 26° C. Gejala ditandai oleh *exophthalmia*, *rosacea* dan luka pada dasar sirip dada dan *hemorrhagic gonads*.

2.6.3 Pemisahan

Menurut Sarker dan Nahar (2009), sejumlah senyawa rasemik (\pm), yakni campuran 2 enansiomer (-) dan (+) dalam jumlah yang sama. Sering kali, salah satu enansiomer menunjukkan sifat-sifat medis. Oleh karena itu, penting untuk memurnikan campuran rasemik sehingga enansiomer yang aktif dapat diperoleh.

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Sa'ad, 2009).

2.6.3.1 Kromatografi Kolom

Menurut Adnan (1997), pemisahan komponen secara kromatografi kolom dapat dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase stasioner dan cairan (pereaksi) sebagai fase gerak untuk mengetahui banyaknya komponen sampel yang keluar melalui kolom. Ditambahkan menurut Hayani (2007), pengisian kolom dilakukan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (*slurry*), dan partikelnya dibiarkan mengendap.

Pemisahan komponen suatu campuran tergantung pada tingkat kepolaran dari fase gerak dan senyawa yang terkandung dalam campuran tersebut (Sa'ad, 2009). Ditambahkan menurut Sastrohamidjojo (2001), kecepatan bergerak dari suatu komponen tergantung pada berapa besarnya komponen terhambat atau tertahan oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap kuat. Akan terlihat bahwa jika perbedaan-perbedaan dalam serapak cukup besar maka akan terjadi pemisahan yang sempurna.

2.7 Identifikasi Senyawa Bioaktif

Identifikasi golongan senyawa bioaktif bergantung pada pengukuran sifat dari ciri lain yang dibandingkan dengan data pustaka. Menurut Harborne (2006), senyawa yang pernah diketahui dapat diidentifikasi berdasarkan data spektrum, seperti UV, infrared (IR), resonansi magnet inti (RMI), dan spektrum massa (SM).

2.7.1 Spektrofotometer *Ultraviolet Visible* (UV-Vis)

Metode spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu metode analisis kimia untuk menentukan unsur senyawa, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Menurut Fatimah, *et al.* (2009), analisis secara kualitatif spektrofotometri UV-Vis berdasarkan pada panjang gelombang yang ditunjukkan oleh puncak spektrum (190 nm – 900 nm), sedangkan analisis secara kuantitatif berdasarkan pada penurunan intensitas cahaya yang diserap oleh suatu media.

Tabel 3. Ciri spektrum golongan flavonoid

λ maksimum utama (nm)	λ maksimum tambahan (nm) (dengan intensitas nisbi)	Jenis Flavonoid
475-560	± 275 (55%)	Antosianin
390-430	240-270 (32%)	Auron
365-390	240-260 (30%)	Kalkol
350-390	± 300 (40%)	Flavonol
250-270	± 300 (40%)	Flavonol
330-350	tidak ada	Flavon dan biflavonil
300-350	tidak ada	Flavon dan biflavonil
275-295	310-330 (30%)	Flavonon dan flavononol
± 225	310-330 (30%)	Flavonon dan flavononol
310-330	310-330 (30%)	Isoflavon

Sumber: (Markham, 1998).

2.7.2 Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR)

Metode spektrofotometer FT-IR biasa digunakan dalam mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran (Day dan Underwood, 1989).

Menurut Widodo (2007), jika kita mempunyai senyawa yang tidak diketahui yang memiliki gugus-gugus fungsional yang ingin diidentifikasi, kita dapat menguji struktur IR nya dan menggunakan data korelasi untuk mendeduksi gugus fungsional apa yang terdapat dalam senyawa tersebut.

2.7.3 Uji GC-MS

Kromatografi merupakan metode pemisahan. Dibandingkan dengan metode pemisahan klasik seperti destilasi, kristalisasi, pengendapan ekstraksi, dan lain-lain, mempunyai kelebihan dalam pelaksanaan yang lebih sederhana. Penggunaan waktu yang singkat dan terutama mempunyai kepekaan serta kemampuan memisahkan serta kemampuan pemisahan yang tinggi. Prosedur kromatografi dapat digunakan jika metode klasik tidak dapat dilakukan karena jumlah cuplikan rendah, kompleksitas campuran yang hendak dipisahkan atau sifat kekerabatan zat yang hendak dipisah. Kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi gas dapat dilakukan dalam laboratorium dan sangat sesuai dengan identifikasi dan pemeriksaan kemurnian senyawa obat dan campuran senyawa obat. Prosedur kromatografi tunggal dapat dibedakan menurut jenis pemisahan zat atau menurut jenis pemisahan zat atau menurut materi pemisahan yang digunakan. Seringkali berbagai prinsip pemisahan dijadikan satu. Untuk karakterisasi hasil pemisahan dikenal dengan parameter pengenalan (Roth dan Blaschke, 1985).

Kegunaan umum kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi gas dapat bersifat destruktif dan dapat bersifat non destruktif tergantung detektor yang digunakan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kromatografi gas disamping untuk tujuan analisis, juga sering digunakan untuk mempelajari struktur suatu komponen kimia, menentukan mekanisme dan

kinetik dari reaksi-reaksi kimia, serta mengukur isothermal, sifat panas larutan, sifat panas penyerapan, energi bebas dari larutan dan atau penyerapan, koefisien aktifitas, dan tetapan difusi. Penerapan lainnya yang nyata adalah dalam bidang persiapan komponen murni atau fraksi-fraksi komponen yang berguna sebagai standart untuk penelitian-penelitian selanjutnya (Fardiaz, 1989).

Tabel 4. Kondisi Pengoperasian GC-MS Untuk Analisis Sampel

Syarat Kondisi Gas Chromatography	
Kolom	DB-5ms; 25 m x 30 mm ID x 0,25 μ m
Arus Initial Mode	1 ml / menit, terus mengalir (fase gas)
Injeksi Mode	berdenyut spitless
Jumlah Injeksi	1 μ l
<i>Temperature Injeksi Port</i>	290° C
<i>Pulse Pressure and Time</i>	35 psi, 0,5 min
<i>Purge Flow and Sisa</i>	20 ml / menit, 2 menit
<i>Solvent Delay</i>	5 menit
Temperatur Oven Awal, Tunggu Sisa	50° C, 1 menit
Temperatur Ramp 1, <i>Plateau</i>	30° C / menit, 280° C
Ramp Temperatur 2, <i>Plateau</i>	15° C / menit, 310° C
Final Tahan Sisa	4 menit

Sumber: (Arnestown dan Gaththersburg, 2009).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Eucheuma cottonii segar diperoleh dari perairan Madura, Jawa Timur. *E. cottonii* dipanen dari daerah budidaya dan pada saat pemanenan *E. cottonii* dicuci dengan menggunakan air laut. Dicuci untuk membersihkan pasir, sisa lumpur dan kotoran lainnya yang masih melekat.

Eucheuma cottonii dimasukkan ke dalam kantong plastik warna hitam untuk menghindari kontak dengan sinar matahari. *Eucheuma cottonii* dimasukkan ke dalam *coolbox* lalu diberi es balok dan bagian luar *coolbox* disegel dengan lackban untuk mempertahankan suhu rendah (*cold chain system*) dalam *coolbox* selama proses transportasi. Selang waktu pengangkutan dari tempat pemanenan ke laboratorium adalah 5 jam.

Pelarut yang digunakan untuk ekstrak *Eucheuma cottonii* didapatkan dari makmur sejati yaitu *dimetil sulfoksida* (DMSO) konsentrasi 10 % dan n-heksan teknis sebagai pelarut non polar dengan konsentrasi 96%. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji cakram adalah kertas cakram (*paper disc*) yang masing-masing berdiameter 6 mm, *cotton swap*, aquades, biakan murni bakteri *Vibrio harveyii*, media NB merck (*Nutrient Broth*), media MHA merck (*Mueller Hinton Agar*), dan media TCBSA merck (*thiosulfat citrate bile salt agar*) untuk menumbuhkan *Vibrio harveyii*. Kepadatan bakteri adalah 10^7 cfu/ml. Semua bahan diperoleh dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam maserasi (ekstaksi) senyawa antibakteri dari *Eucheuma cottonii* adalah baskom, pisau, talenan, blender,

timbangan digital, *beaker glass* 500 ml, *beaker glass* 100 ml, erlenmayer 300 ml, corong *glass*, spatula, gelas ukur 250 ml, timbangan analitik AND ek 610 acis, serta lemari es *Sharp* untuk menyimpan sampel. Alat-alat yang digunakan pada saat pemisahan pelarut dari ekstrak adalah 1 unit *rotary vacuum evaporator Janke dan Kunkel RV 06-ML* dan botol vial. Adapun alat-alat yang digunakan untuk uji cakram adalah autoklaf untuk sterilisasi alat, mikro pipet, cawan petri, bunsen, dan inkubator. Untuk identifikasi kandungan senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak digunakan 1 unit alat UV-Vis (*Ultraviolet Visible*) *Shimadzu 1601*, FT-IR (*Fourier Transform Infrared*), dan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*), yang ketiga alat tersebut terdapat pada Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode Eksperimen

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen (*Experimental Research*). Metode Eksperimen adalah kegiatan penelitian yang bertujuan untuk menilai pengaruh suatu perlakuan / tindakan / *treatment* dan tujuan umum penelitian eksperimen adalah untuk meneliti pengaruh dari suatu perlakuan tertentu terhadap gejala suatu kelompok tertentu dibanding dengan kelompok lain yang menggunakan perlakuan yang berbeda. Ditambahkan menurut Singarimbun dan Effendi (1983), penelitian eksperimen lebih mudah dilakukan di Laboratorium karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia, dimana pengaruh luar dapat dengan mudah dicegah selama eksperimen. Eksperimen dalam penelitian ini dibagi dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian ini.

Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari penggunaan pelarut n-heksan terhadap kualitas antibakteri hasil ekstraksi.

Hipotesis ini dibuktikan dengan melakukan uji daya penghambatan antibakteri dari senyawa yang berhasil diekstraksi oleh pertumbuhan bakteri uji *Vibrio harveyi*. Indikator yang ingin dicapai adalah adanya perbedaan diameter zona bening (zona penghambatan bakteri) dimana semakin lebar zona bening, maka semakin efektif senyawa kimia dari sampel yang berhasil diekstraksi.

Variabel bebas adalah variabel yang diselediki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994). Variabel bebas dalam penelitian adalah ekstrak bioaktif *E. cottonii*. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm.

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor dengan 4 ulangan. Faktor pertama adalah penggunaan bioaktif *E. cottonii* dan antibiotik ampicilin. Faktor kedua adalah konsentrasi berbeda (400 ppm, 800 ppm, 1600 ppm). Masing-masing perlakuan diuji daya hambatnya dengan bakteri uji *Vibrio harveyi* secara duplo, dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan Acak Lengkap

FAKTOR	KONSENTRASI	ULANGAN			
		1	2	3	4
A	400 (a)	Aa1	Aa2	Aa3	Aa4
	800 (b)	Ab1	Ab2	Ab3	Ab4
	1600 (c)	Ac1	Ac2	Ac3	Ac4
B	400 (a)	Ba1	Ba2	Ba3	Ba4
	800 (b)	Bb1	Bb2	Bb3	Bb4
	1600 (c)	Bc1	Bc2	Bc3	Bc4

Keterangan:

- A: Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma cottonii* (Bioaktif).
- B: Kontrol Ampicilin.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor dimana setiap perlakuan dilakukan sebagai satuan

tersendiri, tidak ada hubungan pengelompokan. Rumus dari model RAL adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}; \quad i = 1, 2, \dots, t; \quad j = 1, 2, \dots, r$$

dimana :

Y_{ij} = Nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

μ = Nilai rata-rata

α_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

3.2.2 Parameter Uji

Parameter yang dilakukan adalah parameter kuantitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Sebagai pembandingan (kontrol) dilakukan pengukuran zona hambat dari masing-masing pelarut untuk mengetahui apakah zona hambat yang dihasilkan berasal dari daya antibakteri ekstrak itu sendiri atau berasal dari daya antibakteri ekstrak itu sendiri atau berasal dari pelarutnya yang memang sudah memiliki daya antibakteri. Rumus untuk mencari zona hambat adalah: Daya hambat = diameter zona jernih - diameter paper disk. Kategori daya hambat antibakteri menurut Davis Stout (2000), dapat diklasifikasikan seperti berikut:

Tabel 6. Klasifikasi Respon Hambatan

Daya hambat antibakteri	Kategori daya hambat antibakteri
≥ 20 mm	Sangat kuat
10 – 20 mm	Kuat
5 – 10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

3.2.3 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1% dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT pada

taraf 5% untuk mengetahui perlakuan terbaik, dalam hal konsentrasi yang digunakan.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pembuatan Ekstrak *Eucheuma cottonii*

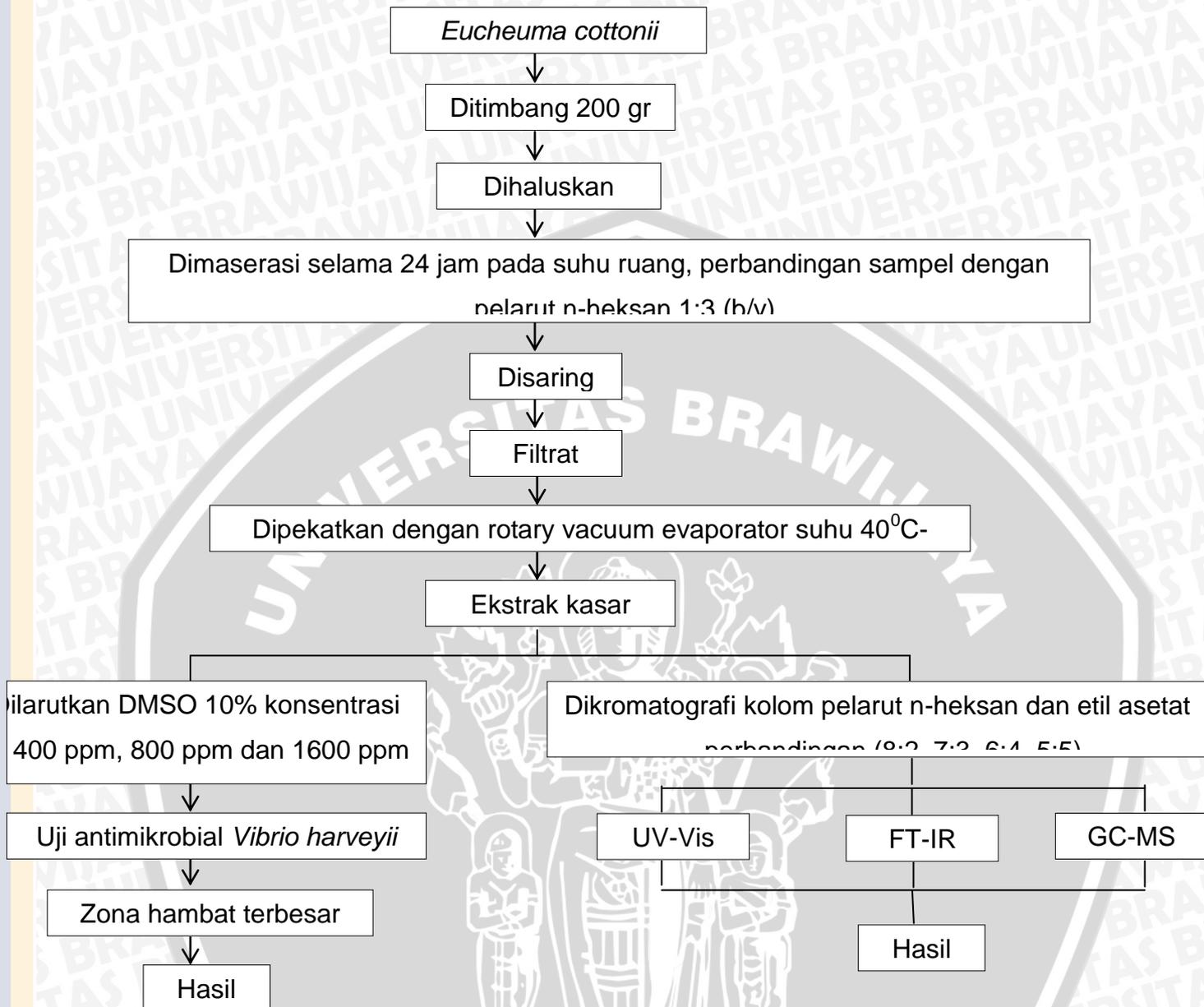
Prosedur awal dalam pembuatan ekstrak *Eucheuma cottonii* adalah rumput laut segar dicuci dan dibersihkan dari ephifit dan kotoran lain dengan menggunakan air bersih dan aquadest. Kemudian dikering dengan diangin-anginkan. Sampel rumput laut dipotong-potong dengan ukuran ± 1 cm. Setelah kering, sampel rumput laut dihaluskan dengan blender sehingga diperoleh bubuk kering. Kemudian dimaserasi dengan menggunakan n-heksan dengan perbandingan 1:3 (b/v) (200 gram : 600 ml) selama 1 x 24 jam. Maserasi dilakukan pada temperatur 40°C di dalam ruangan gelap (inkubator oven). Dilakukan pada suhu 40°C adalah karena pada suhu tersebut merupakan suhu optimum yang memberikan hasil rendemen tertinggi. Rumput laut kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung dalam erlenmeyer sehingga diperoleh filtrat ekstrak n-heksan yang bebas dari kotoran.

Ekstrak n-heksan yang terkumpul kemudian dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 - 45°C sampai tidak terjadi lagi pengembunan pelarut pada kondensor (menunjukkan semua pelarut telah menguap). Kemudian didapatkan ekstrak kasar. Kemudian ekstrak dilarutkan dengan pelarut DMSO 10% pada konsentrasi 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm. Selanjutnya dimasukkan dalam botol vial sehingga didapatkan ekstrak dari *Eucheuma cottonii*. Lalu dicari zona hambat terbesarnya. Selain itu, ekstrak kasar yang telah diperoleh tersebut, kemudian dipartisi dengan pelarut non polar, yang mana akan dilakukan pengujian UV-Vis, FT-IR, dan GC-MS terhadap hasil dari ekstrak kasar tersebut. Skema kerja pembuatan ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii* dapat dilihat pada Gambar 4.

3.3.2 Uji Cakram

Menurut Wiyanto (2010), prosedur uji cakram yang distandarisasikan (Kirby - Bauer, 1966) merupakan cara untuk menentukan sensitivitas antibakteri. Sensitivitas suatu bakteri terhadap antibakteri ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk. Langkah awal yang dilakukan pada uji cakram yaitu menyiapkan media pertumbuhan bakteri uji. Media yang digunakan ada 2 macam, yakni media TCBSA untuk menumbuhkan bakteri *Vibrio harveyii*, dan media MHA untuk uji cakram. Langkah-langkah pembuatan media TCBSA dapat dilihat pada Lampiran 1. Sedangkan prosedur pembuatan media MHA dapat dilihat pada Lampiran 2.

Kertas cakram direndam dalam zat antimikroba dari ekstrak dengan berbagai konsentrasi 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm selama \pm 15 - 30 menit. Kemudian, kertas cakram yang telah direndam dalam zat antimikroba ditempelkan pada lempeng MHA. Kemudian diinkubasi pada suhu 27 °C, selama 24 jam. Diamati dan diukur zona penghambatan yang terdapat pada masing-masing cakram. Pengukuran zona penghambatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan jangka sorong. Penghambatan pertumbuhan bakteri penguji oleh ekstrak sampel yang memiliki kandungan antibakteri terlihat zona bening yang tidak ditumbuhi oleh bakteri penguji. Tahapan-tahapan dalam pelaksanaan uji cakram metode Kirby-Bauer dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 4. Skema kerja pembuatan ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii*

3.3.3 Metode Pemisahan atau Partisi (Kromatografi Kolom)

Partisi atau pemisahan kandungan senyawa bioaktif rumput laut dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Kolom. Menurut Dira dan Yenni (2009), kromatografi kolom merupakan metode untuk pemisahan campuran. Prinsip kerja kromatografi kolom ialah kolom pemisah diisi dengan penyerap zat padat seperti alumina (fasa tetap) dan dialiri dengan pelarut seperti benzena (fasa bergerak). Senyawa yang diambil pada alga merah (*Eucheuma cottonii*) ini

adalah senyawa flavonoid. Adanya warna kuning yang dihasilkan, menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Adapun langkah yang harus dilakukan pada Kromatografi Kolom ini pertama-tama adalah ekstrak kasar (*Crude extract*) n-heksana yang telah diperoleh kemudian dilarutkan dalam air dan dipartisi berturut-turut dengan etanol dan etil asetat. Kedua ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan dan diuji bioaktivitas antibakterinya. Ekstrak yang paling aktif kemudian dipisahkan menggunakan kromatografi kolom (silika gel 60) dengan eluen yang pertama menggunakan dua macam campuran etil asetat-n-heksan (8:2, 7:3, 6:4, dan 5:5). Fraksi yang paling aktif dan murni kemudian diidentifikasi dengan kromatografi gas spektroskopi massa.

3.3.4 Pengujian Spektrofotometer *Ultraviolet Visible* (UV-Vis)

Pengujian spektrofotometri UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang. Pengujian ini digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi sampai yang diamati, kemudian hasilnya digunakan untuk menganalisa karakteristik bioaktif rumput laut *Eucheuma cottonii*. Di dalam analisa kuantitatif dengan metode spektrofotometri, panjang gelombang sinar yang digunakan harus dipilih terlebih dahulu, agar komponen yang dianalisa menyerap sinar tersebut semaksimal mungkin. Jika bahan yang dianalisa mempunyai warna tertentu, maka warna komplementernya merupakan bagian panjang gelombang yang sesuai untuk analisa tersebut. Cara menganalisa dengan alat spektrofotometer UV-Vis adalah mula-mula alat dinolkan dengan cara larutan blanko dimasukkan ke dalam dua buah kuvet lalu ditekan "*back correct*" dan "*run*". Setelah alat dalam kondisi nol, salah satu blanko dikeluarkan dan diganti dengan ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii*, kemudian, diatur panjang gelombang antara 200 nm – 600 nm. Maka akan muncul tampilan spektrum panjang gelombang dari ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii*.

3.3.5 Pengujian Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared spectrometer* (FT-IR)

Pengujian spektrofotometer FT-IR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang. Uji Spektrofotometer FT-IR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dan bioaktif ekstrak rumput laut *E. cottonii*. Spektrofotometer FT-IR merupakan spektroskopi *infrared* yang dilengkapi dengan transformasi *fourier* untuk mendeteksi dan analisis hasil spektrumnya. Spektrum *infrared* dihasilkan dari pentransmisi cahaya yang melewati sampel. Spektrum *infrared* yang diperoleh, kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}). Analisis gugus fungsi sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum *infrared* menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding yang sudah diketahui. Daerah pada spektrum *infrared* diatas 1500 cm^{-1} menunjukkan pita spektrum atau gugus-gugus fungsi dalam molekul kimia. Sedangkan daerah di bawah 1500 cm^{-1} menunjukkan daerah sidik jari.

3.3.6 Uji GC-MS

Pengujian GC-MS dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang. Uji GC-MS dilakukan untuk mengetahui senyawa daya antibakteri dari ekstrak terhadap bakteri *Vibrio harveyii*. Prosedur kerja kromatografi didasarkan pada pemisahan campuran dua atau lebih senyawa yang berbeda yang terdistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pada umumnya solut terelusi berdasarkan pada peningkatan titik

didihnya, kecuali jika ada interaksi khusus antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50° - 350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi. Gas membawa sampel melalui kolom-kolom *chromatographic*, dan sampel dipisahkan pada temperatur mendidih dan afinitasnya pada kolom. Campuran diidentifikasi oleh timing pemisahan, dikenal dengan *retention time*. *Retention time* ini bersifat unik pada berbagai jenis sampel dan itu ditunjukkan pada kolom *chromatographic*.

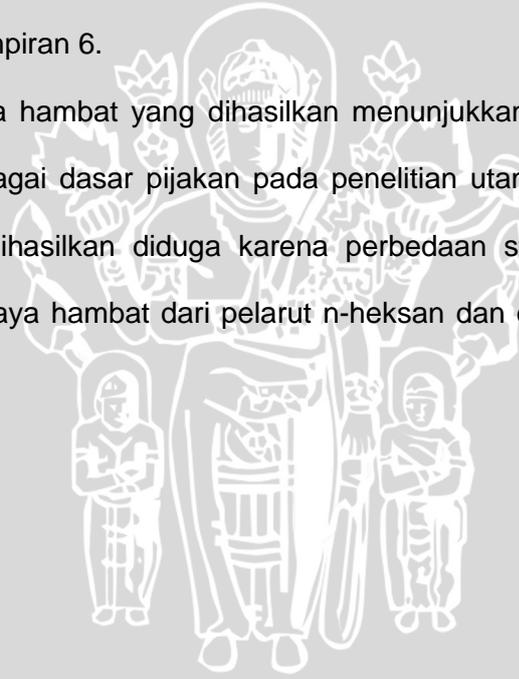


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa pelarut terbaik dalam mengestrak *E. cottonii* adalah n-heksan. Hal ini ditunjukkan dengan hasil rata-rata daya hambat terhadap bakteri *Vibrio harveyii* dengan pelarut n-heksan yaitu 6,35 mm. Sedangkan hasil rata-rata daya hambat terhadap bakteri *Bacillus cereus* dengan pelarut n-heksan yaitu 4,4 mm. Konsentrasi ekstrak *E.cottonii* 800 ppm lebih memiliki pengaruh yang dominan terhadap bakteri *Vibrio harveyii* jika dibandingkan dengan bakteri *Bacillus cereus*. Data hasil penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 6.

Hasil dari daya hambat yang dihasilkan menunjukkan bahwa pelarut n-heksan dijadikan sebagai dasar pijakan pada penelitian utama. Besar kecilnya daya hambat yang dihasilkan diduga karena perbedaan struktur dinding sel bakteri uji. Aktivitas daya hambat dari pelarut n-heksan dan etanol dapat dilihat pada Gambar 5.

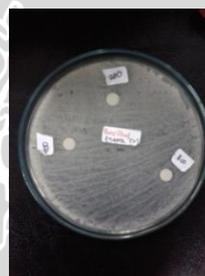




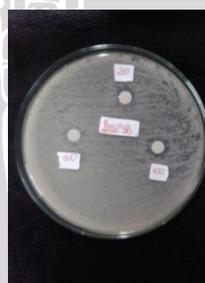
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 5. Aktivitas daya hambat dari pelarut n-heksan dan etanol dengan a) dan b) merupakan bakteri *Vibrio harveyi* secara duplo, c) dan d) merupakan bakteri *Bacillus cereus* secara duplo.

4.2 Penelitian Utama

Pada penelitian utama ini digunakan pelarut n-heksan dalam mengekstrak *E. cottonii*, karena n-heksan merupakan pelarut non polar yang dapat mengekstraksi senyawa non polar. Didukung oleh Munawaroh dan Handayani (2010), n-heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat. Oleh karena itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan juga tergantung jenis pelarutnya. Proses ekstraksi dengan pelarut n-heksan menghasilkan senyawa yang agak kental berwarna kuning cerah dan berbau pelarut. Hasil ekstraksi dari *Eucheuma cottonii* dengan pelarut n-heksan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil Ekstraksi dari *Eucheuma cottonii* dengan pelarut n-heksan

Hasil ekstraksi *E. cottonii* yang didapatkan, dijadikan sebagai konsentrasi (400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm) yang mengalami kenaikan dan penurunan dari hasil konsentrasi terbaik dalam menghambat bakteri *Vibrio harveyii*. *Vibrio harveyii* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel lebih tipis dibandingkan dengan lipid. Ditambahkan menurut Wikipedia^c (2013), sifat dari gram negatif memiliki komposisi dinding sel kandungan lipid tinggi, ketahanan terhadap antibiotik lebih tahan dibandingkan dengan gram positif. Sehingga memungkinkan *Vibrio harveyii* dapat dengan mudah meloloskan difusi pasif dari senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri yang bersifat lipofilik dapat dengan mudah merusak atau mengganggu selektivitas membran sel dan akan mengakibatkan kebocoran atau keluarnya organel dari dalam sel dan menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, bakteri *Vibrio harveyii* lebih tahan terhadap ekstrak dari *E. cottonii*.

4.2.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dilihat dari zona bening pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Notasi BNT 5% Perbandingan Diameter Zona Hambat dan Ekstrak *Eucheuma cottonii* Terhadap *Vibrio harveyi*

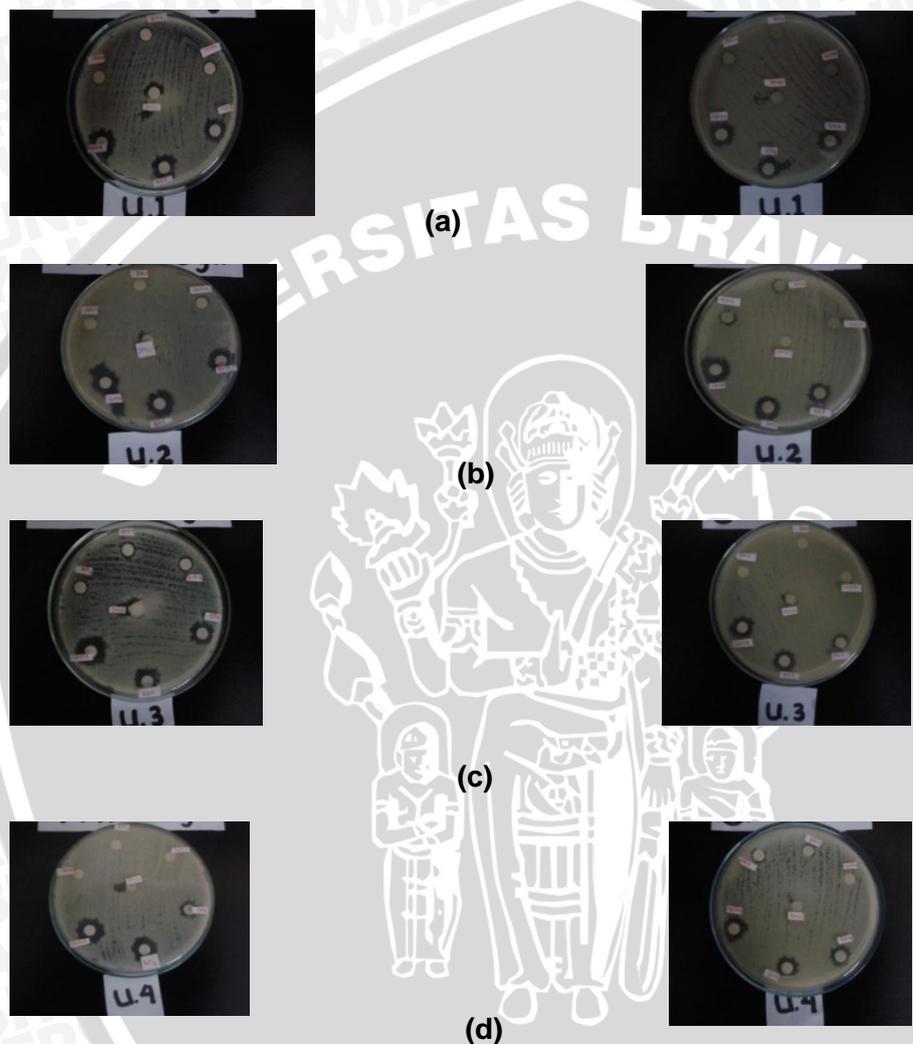
Rata-rata Diameter	Ab (5,8)	Aa (5,9)	Ac (7,1)	Ba (27,78)	Bb (32,7)	Bc (37,73)
Ab(5,8)	-	-	-	-	-	-
Aa (5,9)	0,1	-	-	-	-	-
Ac(7,1)	1,3	1,2	-	-	-	-
Ba (27,78)	21,98	21,88	20,68	-	-	-
Bb (32,7)	26,9	26,8	25,6	4,92	-	-
Bc (37,73)	31,93	31,83	30,63	9,95	5,03	-
Notasi BNT _{0,05} =1,498	a	Ab	ac	d	de	e

Ket: Aa : Ekstrak *Eucheuma cottonii* 400 ppm
 Ab : Ekstrak *Eucheuma cottonii* 800 ppm
 Ac : Ekstrak *Eucheuma cottonii* 1600 ppm
 Ba : Kontrol Ampicilin 400 ppm
 Bb : Kontrol Ampicilin 800 ppm
 Bc : Kontrol Ampicilin 1600 ppm

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa daya hambat terkecil terdapat pada Ab jika dibandingkan dengan Aa, Ac serta kontrol positif (Ba, Bb dan Bc). Sedangkan daya hambat terbesar terdapat pada Ac jika dibandingkan dengan Aa dan Ab. Diduga karena semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula daya hambat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelezar dan Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Didukung oleh Efri *et al.*, (2004) dengan konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kandungan senyawa fenol ataupun zat antibakterinya juga akan semakin banyak. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Srivastava dan Kumar (2011), bahwa dengan konsentrasi ekstrak murni yang sangat tinggi yaitu 7000 ppm dapat menghasilkan daya hambat yang luas sekitar 16,25 nm. Hal ini menyebabkan aktivitas senyawa bakteri yang diharapkan tidak optimal, karena bekerja secara sinergis dengan aktivitas senyawa-senyawa non polar lain yang terkandung

repository.ub.ac.id

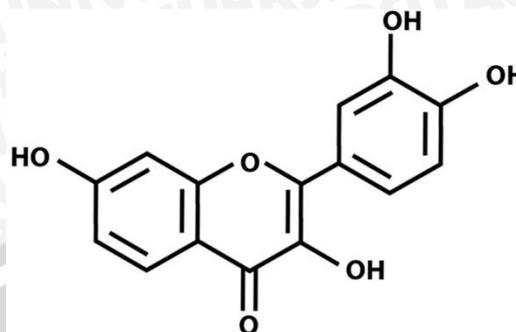
dalam ekstrak kasar *E. cottonii*. Perbandingan diameter daya hambat pada ekstrak *E. cottonii* dengan kontrol positif (ampicilin) konsentrasi 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Perbandingan Zona Hambat Ekstrak *Eucheuma cottonii* dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda (400, 800, dan 1600 ppm) dengan ulangan 1 (a), ulangan 2 (b), ulangan 3 (c), ulangan 4 (d).

Senyawa yang terekstrak dari *E. cottonii* dengan menggunakan pelarut n-heksan diduga merupakan senyawa flavonoid. Menurut Suptijah (2003), *Eucheuma cottonii* memiliki kandungan kimia karagenan dan senyawa fenol, terutama flavonoid. Ditambahkan oleh Kusumaningtyas (2008), bahwa pelarut n-

heksan dapat mengekstraksi komponen aktif antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin. Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur Flavonoid

Diameter daya hambat antibakteri terhadap *V. harveyii* dikatakan resisten terhadap ampisilin jika membentuk diameter daya hambat < 11 mm. Hasil rata-rata daya hambat yang dihasilkan ampisilin terhadap *V. harveyii* yaitu 7,5 mm. Hal ini berarti *V. harveyii* bersifat resisten terhadap ekstrak *E. cottonii*. Antibiotik ampisilin dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri, didukung oleh Siswandono dan Soekardjo (1995) bahwa mekanisme kerja ampisilin di dalam sel bakteri adalah menghambat pembentukan dinding sel dengan cara mencegah bergabungnya asam *N-asetilmuramat*. Hal ini berakibat biosintesis dinding sel terhambat dan sel bakteri menjadi pecah (lisis). Ditambahkan oleh Agung (2012), kelompok ampisilin walaupun spektrumnya lebar, aktivitasnya terhadap mikroba gram positif tidak sekuat penisilin G, tetapi efektif terhadap beberapa mikroba gram negatif dan tahan asam.

Tabel 8. Diameter Zona Hambatan Antibiotika dan Khemoterapetika

Antibiotika / Khemoterape tika	Kekuatan Cakram	Diameter Daerah Hambatan		
		Resisten	Agak Resisten	Peka
Ampisilin -Batang gram negative dan entrokokus	10 µg	< 11 mm	12-13 mm	> 14 mm
-Haemophilus				> 20 mm
Basitrasin	10 satuan	< 8 mm	9-12 mm	> 13 mm
Sefaloridin	30 µg	< 11 mm	12-15 mm	> 16 mm
Sefalotin	30 µg	< 14 mm	15-17 mm	> 18 mm
Khloramfenikol	30 µg	< 12 mm	13-17 mm	> 18 mm
Kolistin	10 µg	< 8 mm	9-10 mm	> 11 mm
Eritromisin	15 µg	< 13 mm	14-17 mm	> 18 mm
Gentamisin	10 µg			> 13 mm
Kenamisin	30 µg	< 13 mm	14-17 mm	> 18 mm
Linkomisin	2 µg	< 9 mm	10-14 mm	> 15 mm
Metisilin	5 µg	< 9 mm	10-13 mm	> 14 mm
Nafsilin dan Oxalin	1 µg	< 10 mm	11-12 mm	> 13 mm
"Nalidixic acid"	30 µg	< 13 mm	14-18 mm	> 19 mm
Neomisin	30 µg	< 12 mm	13-16 mm	> 17 mm
Novobiosin	30 µg	< 17 mm	18-21 mm	> 22 mm
Nitrofurantoin	300 µg	< 14 mm	15-16 mm	> 17 mm
Oleandomisin	15 µg	< 11 mm	12-16 mm	> 17 mm
Penisilin G				
- <i>Staphylococcus</i>	10 satuan	< 20 mm	21-28 mm	> 29 mm
-Lain jasad renik	10 satuan	< 11 mm	12-21 mm	> 22 mm
Polimixin B	300 unit	< 8 mm	9-11 mm	> 12 mm
Streptomisin	10 µg	< 11 mm	12-14 mm	> 15 mm
Sulfanomida	300 µg	< 12 mm	13-16 mm	> 17 mm
Tetrasiklin	30 µg	< 14 mm	15-18 mm	> 19 mm
Vankomisin	30 µg	< 9 mm	10-11 mm	> 12 mm

Sumber: Bonang dan Enggar (1982)

4.2.2 Identifikasi Senyawa Bioaktif

Hasil kromatografi kolom dengan pelarut n-heksan dan etil asetat terdapat 41 fraksi. Fraksi-fraksi yang terbentuk adalah warna kuning pada perbandingan 7:3 (heksan:etil asetat) yang dapat dilihat pada Gambar 9.



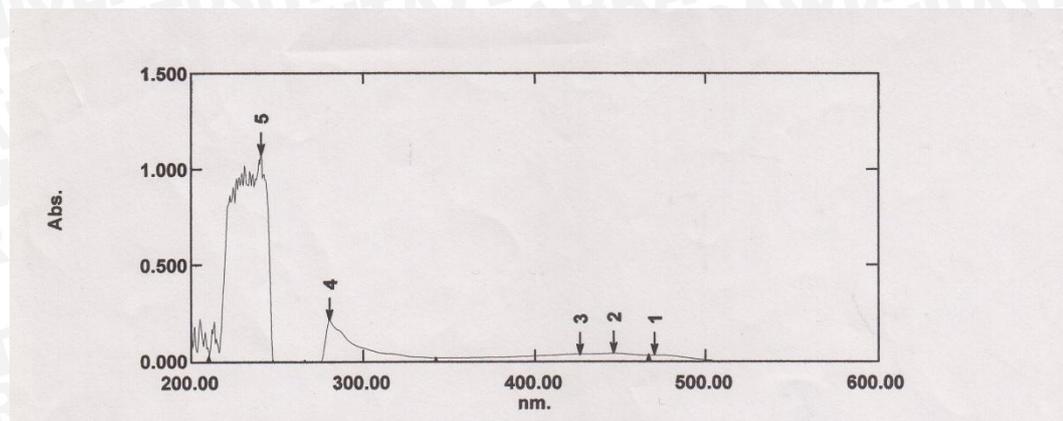
Gambar 9. Sub Fraksi n-heksan : etil asetat (7:3) Ekstrak *Eucheuma cottonii*

Dari gambar diatas diduga ekstrak yang keluar adalah senyawa dari golongan flavonoid dengan adanya warna kuning dimana didapatkan dari fraksi ke-6 lapis bawah berwarna kuning bening, tabung ke-7 sampai 8 lapis tengah berwarna kuning. Menurut Kusini *et al.*, (2013), ekstrak hasil kromatografi kolom dengan silika gel GF₂₅₄ dan pengembang n-heksan : etil asetat positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan adanya warna kuning. Kromatografi kolom heksan:etil asetat ekstrak *E. cottonii* dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Kromatografi Kolom n-heksan:etil asetat *Eucheuma cottonii*

Hasil kromatografi kolom warna kuning dilakukan analisis lanjutan dengan menggunakan Spektrofotometer Ultraviolet (Uv-Vis) dengan panjang gelombang 200 nm – 600 nm. Hasil identifikasi spektrofotometer ultraviolet senyawa bioaktif dari ekstrak *Eucheuma cottonii* dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hasil Identifikasi Spektrofotometer Ultraviolet Senyawa Bioaktif Ekstrak *Eucheuma cottonii*

Dari gambar diatas diketahui bahwa pita serapan yang mempunyai spektrum terdapat pada pita serapan ke-IV dan V jika dibandingkan dengan pita serapan ke-I, II dan III. Data hasil identifikasi spektrofotometer ultraviolet dapat dilihat pada Tabel 9.

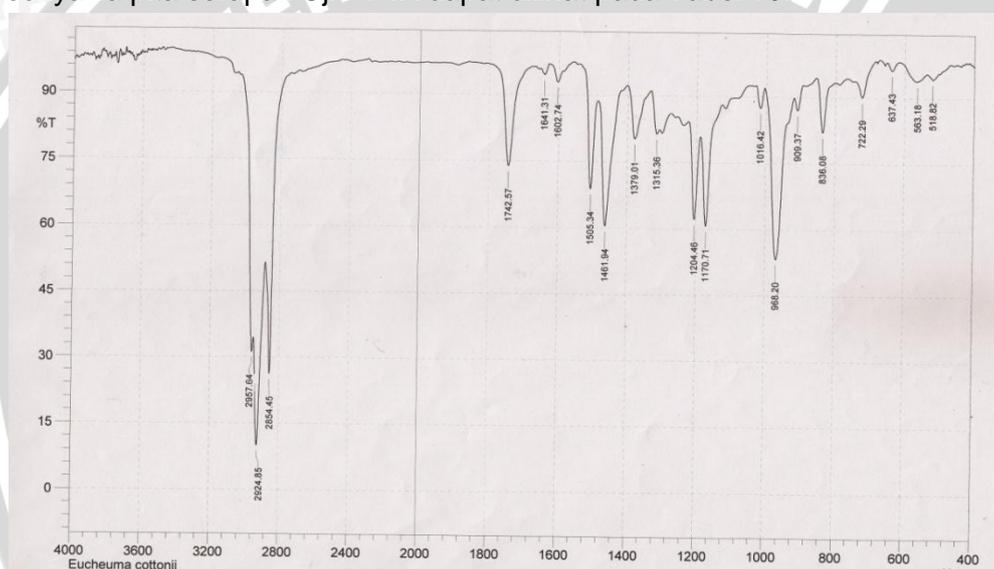
Tabel 9. Data Hasil Identifikasi Spektrofotometer Ultraviolet

Pita Serapan	Gelombang	Absorbansi	Jenis Flavonoid (Markham, 1998)
I	470 nm	0,027 A	-
II	446 nm	0,036 A	Autosianin
III	426 nm	0,033 A	Auron Flavonon dan
IV	280,05 nm	280,05 A	Flavononol
V	240,50 nm	240,50 A	Flavonon dan Flavononol

Dari hasil Uv-Vis tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak *E. cottonii* mengandung senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Didalam flavonoid terdapat senyawa fenol, yang diduga dapat bersifat sebagai antibakteri dengan mekanisme mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Hal ini ditunjang oleh Pranowo (2009) yang menyatakan bahwa rumput laut mengandung komponen fenolik yang berfungsi sebagai antibakteri. Komponen fenolik merupakan komponen yang bersifat polar sehingga lebih

mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol. Namun pelarut semi dan non polar juga masih dapat mengestrak senyawa fenolik. Ditambahkan oleh Johannes (2013), fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Kondisi asam oleh adanya fenol dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyii*.

Hasil ekstrak dari uji kromatografi kolom yang berwarna kuning selanjutnya dilakukan Uji Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR), pola spektra inframerah ekstrak *E. cottonii* dapat dilihat pada Gambar 12, serta senyawa pita serapan Uji FT-IR dapat dilihat pada Tabel 10.

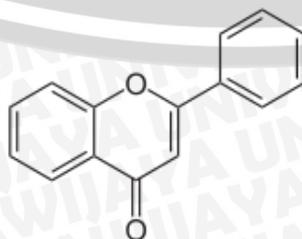


Gambar 12. Hasil Spektrofotometer Inframerah Senyawa Bioaktif *Eucheuma cottonii*

Tabel 10. Data Senyawa Pita Serapan Uji FT-IR

Ikatan	Daerah Frekuensi	Pustaka (Nieman, 1998)	
		Daerah Frekuensi	Senyawa
C-H Alfatik	2957,64 2924,85 2854,45	2800-3000	Alkana
C-H	1461,34 1379,01 1315,36	1340-1470	Alkana
C-H	968,2 909,37 836,08 722,29	675-995	Alkena
C=O	1641,31 1742,57	1690-1760	Aldehid, keton, asam karboksilat, ester
C=C	1505,34	1500-1600	Cincin aromatik
C-O	1204,46 1170,71 1115,74 1055,95	1050-1300	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester

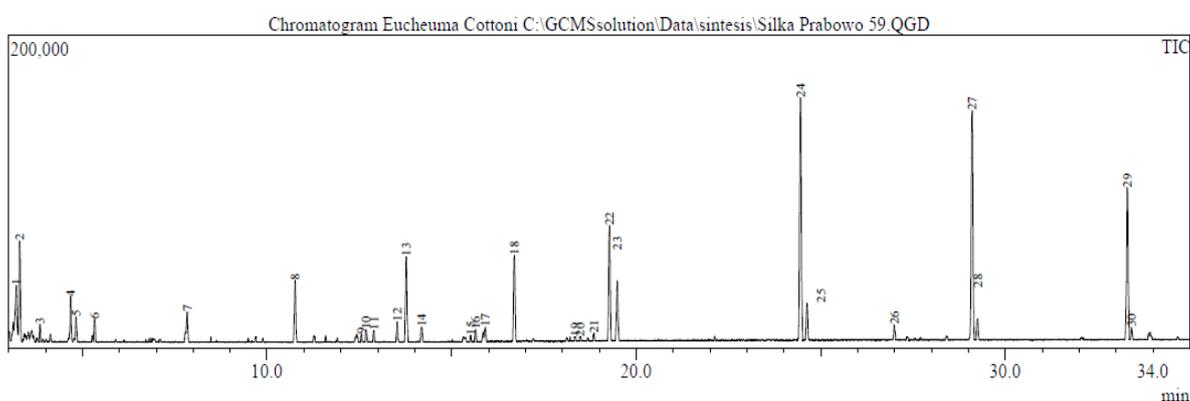
Dari data FT-IR diatas dapat diketahui bahwa isolat senyawa *E.cottonii* mengandung gugus C=O, C=C, C-H dan C-O, menurut Rosyidah *et al.*, (2012) senyawa dengan gugus -OH, C=O, -CH alifatik dan diindikasikan sebagai senyawa flavonoid golongan flavon. Analisa sementara dari hasil spektra inframerah diduga bahwa senyawa yang terkandung adalah senyawa flavonoid dari golongan flavon dengan struktur molekul dapat dilihat pada Gambar 13.



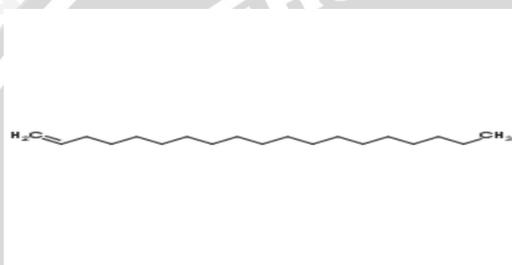
Gambar 13. Struktur Flavon

Senyawa flavon termasuk kedalam golongan flavonoid yang diduga juga berperan sebagai antibakteri. Didukung oleh penelitian Pringgenies *et al.*, (2012), bahwa gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri. Oleh karena itu senyawa flavonoid dan turunannya diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil uji GC-MS terhadap ekstrak *Eucheuma cottonii* menghasilkan 30 tampilan puncak dengan 39 jenis senyawa antibakteri berhasil diidentifikasi. Analisis senyawa-senyawa antibakteri dengan metode GC-MS ditampilkan pada Gambar 14, sedangkan jenis-jenis senyawa yang berhasil diidentifikasi disajikan pada Lampiran 5.



Terdapat 4 puncak dominan yang memiliki luas area di atas 7%, antara lain puncak ke 22, 24, 27 dan 29. Dari 4 puncak terluas tersebut terdapat 6 senyawa antibakteri yang berhasil diidentifikasi antara lain dari senyawa 3-hexadecene, 3-tetradecene, 3-octadecene, 3-eicosene, 9-eicosene dan 1-nonadecane. Struktur kimia disajikan pada Gambar 15.

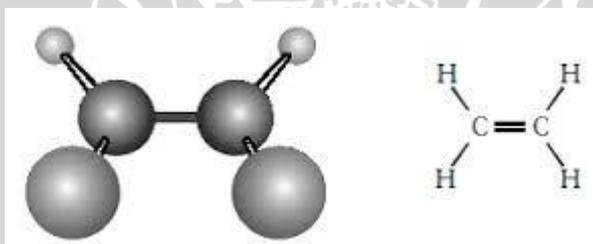
a. C₁₆H₃₂b. C₁₄H₂₈c. C₁₈H₃₆d. C₂₀H₄₀f. C₁₉H₃₈

Gambar 15. Struktur Kimia Senyawa a) Hexadecene. b) Tetradecene, c) Octadecene, d) Eicosene, e) Nonadecene (Chemicalbook, 2006).

Senyawa yang diduga juga bersifat antibakteri terdapat pada puncak 7, 18, 23, 25, 24, 26, 27 dan 28 antara lain *Pentadecane*, *Octadecene* dan *Docosane*. Didukung oleh Mishra dan Shree (2007), bahwa senyawa seperti 1-*Octadecene* dan *Heptadecene* ditemukan pada tanaman dan algae yang bersifat sebagai antikanker, antioksidan dan antibakteri. Ditambahkan pula oleh Srivastava dan Kumar (2011), senyawa aktif yang bersifat antibakteri yaitu *Octane*, 1-*Octadecene*, 3-*Eicosene*, 9-*Eicosene*, 1-*Hexadecene*, *Docosane* dan *Pentadecane*. Sedangkan menurut penelitian dari Chaloraborty (2007), bahwa kedua senyawa *Eicosene* dan *Heptadecane* mempunyai aktivitas antimikroba yang kuat. *Eicosene* merupakan senyawa yang bersifat antibakteri

karena merupakan asam lemak. Menurut Lampe *et al.*, (1998), aktivitas lemak pada antibakteri dan asam lemak mempunyai konsentrasi paling tinggi pada algae. Asam lemak dalam antibakteri dapat membunuh mikroba dengan menyebabkan gangguan membran sel karena mereka dapat menembus peptidoglikan pada dinding sel tanpa perubahan yang tampak dan terjadi kerusakan pada membran sel bakteri.

Senyawa antibakteri juga terdapat pada senyawa golongan dari alkena. Didukung oleh penelitian Rohmah (2010) bahwa senyawa-senyawa golongan alkena, alkanol dan asam karboksilat diduga memiliki peran sebagai antibakteri. Senyawa alkena memiliki ikatan rangkap dalam struktur molekulnya yang memungkinkan untuk berikatan dengan molekul lain. Alkena merupakan kelompok hidrokarbon yang terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum C_nH_{2n} , serta memiliki 1 ikatan rangkap (Wikipedia, 2008). Struktur molekul alkena dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Struktur Molekul Alkena

Ikatan rangkap yang terdapat pada alkena diduga dapat menembus dinding sel dan menghambat aktivitas bakteri dengan cara berikatan dengan molekul lain. Didukung oleh Muroi dan Kubo (1993), peningkatan kejenuhan rantai alkil meningkatkan aktivitas antimikroba atau adanya struktur rantai alkil rangkap dapat menurunkan aktivitas antimikroba.

4.3 Pembahasan

4.3.1 Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri

Senyawa-senyawa antibakteri dikelompokkan menjadi 4 golongan berdasarkan gugus aktif dan ada tidaknya ikatan rangkap, yaitu alkana, alkena, alkanol dan asam karboksilat. Alkena merupakan kelompok hidrokarbon yang terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum C_nH_{2n} serta memiliki 1 ikatan rangkap (Wikipedia, 2013). Alkanol merupakan senyawa turunan alkana yang salah satu atom H nya diganti oleh gugus fungsi OH sehingga memiliki rumus struktur R-OH dan rumus umum $C_nH_{2n+2}O$ (Chemicaland21, 2009).

Alkana dalam kimia organik merupakan kelompok senyawa kimia yang hanya terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum C_nH_n kecuali pada bentuk siklik, memiliki jumlah atom hidrogen lebih banyak dibandingkan kelompok hidrokarbon lainnya serta tidak memiliki ikatan rangkap (Ars-grin, 2008). Alkana tidak memiliki ikatan rangkap sehingga diduga tidak memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio harveyii*. Asam alkanoat atau asam karboksilat merupakan golongan senyawa karbon yang mempunyai gugus fungsional $-COOH$ terikat langsung pada gugus alkil, sehingga rumus umum asam alkanoat adalah: R-COOH (Riawan, 1990).

Senyawa-senyawa golongan alkena, alkanol dan asam karboksilat diduga memiliki peran sebagai antibakteri. Senyawa alkena memiliki ikatan rangkap dalam struktur molekulnya yang memungkinkan untuk berikatan dengan molekul lain, senyawa alkanol memiliki gugus hidroksil yang dapat menjembatani ikatan hidrofobik dengan hidrofilik, sedangkan senyawa karboksilat memiliki gugus karboksil yang dapat berikatan dengan gugus amina protein. Ditambahkan menurut Maryani (2002), bahwa senyawa-senyawa yang mampu berperan sebagai antibakteri yang mengandung ikatan rangkap C=C alkena alifatik dan aromatik, gugus C=O karbonil, gugus C-O-C ester, gugus metilen serta gugus

metil. Menurut Fessenden (1999), suatu asam karboksilat adalah suatu senyawa organik yang mengandung gugus karboksil $-COOH$. Gugus karboksil mengandung gugus karbonil dan sebuah hidroksil; antar aksi dari kedua gugus ini mengakibatkan suatu kereaktifan kimia yang unik dan untuk asam karboksilat.

Senyawa-senyawa antibakteri diduga memiliki aksi sinergis di dalam penghambatan pertumbuhan bakteri. Senyawa alkanol dan senyawa asam karboksilat memiliki aksi yang khas di dalam penghambatan dimana alkanol bekerja melalui aksi mendenaturasikan protein, merusak membran sel, sarana dehidrasi sel serta aksi detergen atau merupakan penghubung antara ikatan hidrofilik dan hidrofobik. Asam karboksilat bekerja melalui aksi memecah ikatan hidrogen dan mendenaturasikan protein. Tingkat aktivitas germisidal dari alkanol adalah sedang, sedangkan asam karboksilat bersifat sedang hingga tinggi. Bila alkanol dikombinasikan dengan asam karboksilat maka aktivitasnya akan meningkat menjadi germisidal tingkat aktivitas tinggi (Pelezar dan Chan, 1988).

4.3.2 Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

Ekstrak *Eucheuma cottonii* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio harveyi*, hal ini dapat dilihat dari diameter zona hambat pada uji cakram. Menurut Wikipedia^c (2013), sifat dari gram negatif memiliki komposisi dinding sel kandungan lipid tinggi, ketahanan terhadap antibiotik lebih tahan dibandingkan dengan gram positif. Sehingga memungkinkan *Vibrio harveyi* dapat dengan mudah meloloskan difusi pasif dari senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri yang bersifat lipofilik dapat dengan mudah merusak atau mengganggu selektivitas membran sel dan akan mengakibatkan kebocoran atau keluarnya organel dari dalam sel dan menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, bakteri *Vibrio harveyi* lebih tahan terhadap antibiotik dan ekstrak dari *E. cottonii*.

Kemampuan antimikroba dalam memberikan penghambatan terhadap mikroorganisme sangat bergantung pada konsentrasi dan kandungan

senyawanya, berarti semakin tinggi konsentrasi antimikroba yang digunakan, semakin cepat mikroba terhambat. (Ristiati, 2000). Ditambahkan menurut Ardiansyah (2007), pada dasarnya mekanisme menghambat mikroorganisme oleh antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya: 1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel; 2) peningkatan permeabilitas membran sel; 3) menginaktivasi enzim; dan 4) kerusakan fungsi material genetik.

Menurut Jawetz (2009), membran luar memiliki saluran khusus, yang terdiri dari protein yang disebut porin, yang dapat meloloskan difusi pasif dari beberapa molekul hidrofilik dengan berat rendah, misalnya gula, asam amino, dan ion tertentu. Molekul antibiotik yang besar menembus membran luar dengan sangat lambat, sehingga bakteri gram negatif relatif sangat tahan terhadap antibiotik. Permeabilitas membran luar bakteri gram negatif sangat bervariasi antara spesies yang satu dengan yang lain; misal membran luar *Pseudomonas aeruginosa*, sangat kebal terhadap bahan antibakteri.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil dari ketiga konsentrasi yaitu 400, 800 dan 1600 ppm yang digunakan sebagai konsentrasi ekstrak *Eucheuma cottonii*, yang menghasilkan daya antibakteri terbaik terdapat pada konsentrasi 1600 ppm. Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 1,78 mm.

Hasil analisis dengan metode GC-MS, diduga terdapat 6 senyawa antibakteri yang terekstrak dari *E. cottonii*, antara lain 3-hexadecene, 3-tetradecene, 3-octadecene, 3-eicosene, 9-eicosene dan 1-nonadecane. Senyawa-senyawa tersebut digolongkan sebagai senyawa alkena. Berdasarkan gugus fungsi, yang memiliki aktivitas antibakteri merupakan senyawa yang berasal dari golongan alkena. Sedangkan senyawa yang terdeteksi sebagai flavonoid adalah senyawa eugenol.

5.2 Saran

Disarankan pada penelitian selanjutnya agar digunakan ekstrak murni dari *Eucheuma cottonii* dengan konsentrasi yang lebih tinggi, agar dihasilkan daya hambat luas yang dapat bersifat sebagai antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta: Penerbit Andi. Halaman 10, 15-16.
- Afrianto dan Liviawaty, 1993. *Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan*. Kanisius. Yogyakarta, 89 hal.
- Arnestown, D. And R.D. Gattersburg. 2009. *Procedure Operational Standart For Phthalates Analysis*. Laboratory Science division of Chemistry. United States.
- Arabei, I. Y. 2000. *Vegetable From The Sea*. <http://www.AlkalizeforHealth.net/Library.Html>.
- Aslan, L. M. 2006. *Budidaya Rumput Laut*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Atmadja, W. S. 2004. Rumput laut sebagai Obat. *Oseana Volume XVII*. 1:1-8.
- Bonang, G dan Enggar S. K. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT. Gramedia
- Burtin, P. 2006. *Nutritional Value of Seaweed*. *Electronic J. Environ. Agric. Food. J. Chem.* 5 (3): 6.
- Breed, Goh, S. H. 1998. "Neoflavonoid dan Biflavonoid Constituents of *Calophyllum Inophylloide*", *J. Nat. Prod.*, Vol 55, No.10, p. 1415.
- Cannell, R.J.P. 1998. *Natural Products Isolation*. Human Press, New Jersey.
- Day, R.A and Underwood, 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Penerbit erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka.
- Davis, S. 2000. Antibacterial Activity Of Extracts Of Six Macroalgae From The Northeastern Brazilian Coast. Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciencias Biologicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte;Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, CE, Brasil. *Brazilian Journal Of Microbiology*. 33:311-313.
- Dira, I.M., Yenni, C. 1985. *Identifikasi Senyawa Antibakteri Pada Daun Kecapi *Sandoricum koetjape* (Burn.f)*. ISSN 1907-9850.
- Doty, M.S. 1985. "Taxonomy of Economic Seaweeds: *Euclima alvarezii* sp.nov (*Gigartinales, Rhodophyta*) from Malaysia". California Sea Grant College Program. 37 – 45.
- Dwayana, Z dan Johannes, E. 2013. *Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah (*Euclima cottonii*) Sebagai antibakteri Terhadap Bakteri Patogen*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Eri, 2007. Manfaat Rumput Laut, cegah Kanker dan Antioksidan, *GiziKulinerIndonesia*, hlm.24.

Elfahrybimantara, 2009. *Algae Coklat Sargassum duplicatum*. <http://elfahrybimantara.blogspot.org>. Diakses pada tanggal 18 Februari 2013.

Fardiaz, 1989. *Mikrobiologi Pangan*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Fessenden. 1999. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 3*, Terjemahan Aloysius Handayana Pudjaatmaka, Jakarta.

Gandjar, I.G dan A, Rohman, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

Googleimage^a, 2013. Rumus Bangun Heksan. Diakses pada tanggal 10 Januari 2013.

Googleimage^b, 2013. *Vibrio harveyi*. Diakses pada tanggal 11 Januari 2013.

Handayani, D. Maipa, D., Marlina, Meilan. 2007. *Skrining Aktivitas Antibakteri Beberapa Biota Laut dari Perairan Pantai Painan, Sumatera Barat*. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas Padang.

Harborne, J.B. 1987. *Fitokimia. Penuntun Cara modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua*. Penerbit ITB, Bandung.

Harborne, J.B. 2006. *Fitokimia. Penuntun Cara modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua*. Penerbit ITB, Bandung.

Hastari, R. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah dan Batang Tanaman Pisang Ambon (Musa paradisiaca var. Sapientum) terhadap Staphylococcus aureus*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.

Hikmah. 2007. *Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) dari minyak dedak dan metanol dengan proses Esterifikasi dan Transesterifikasi*. Universitas Diponegoro. Semarang.

Hostettmann, K. 1991. *Bioactivity in Plants: The link between phytochemistry and medicine*. *Phytochemistry*, 30: 3864-3874.

Indriani dan Suminarsih. 2003. *Aktivitas Antibakteri Daun Senggugu (Clerodendron serratum [L.] Spr.)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Bogor.

Iskandar, Y., Dewi R., Rini R. D. 2012. *Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak Etanol Rumput Laut (Eucheuma cottonii) Terhadap Bakteri Escherichia coli dan Bacillus cereus*. Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran. Bandung.

Jawetz, E., J.L, Melnick, and E. Adelberg. 1995. *Medical Microbiology*. Apleton and Lange. New York.

Jay, I. M. 2000. *Modern Food Microbiology*. Seventh Edition.

Johannes S.P. 2013. *Uji Daya Inhibisi ekstrak kasar Flavonoid Sambilotto (Andrographis paniculata) dan Temu Putih (Curcuma zedoaria)*

Roscoe) Terhadap Aktivitas Tirosin Kinase Secara In Vitro.
Institut Pertanian Bogor.

- Kosmara, A. 1991. *Ekstraksi Oleoresin Jahe Kajian Dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kusini., Melki., Wike, A. 2013. *Uji Antibakteri Ekstrak Gracillia sp (Rumput Laut) terhadap bakteri Escherchia coli dan staphylococcus aureus*. Universitas Sriwijaya.
- Kusmiyati dan N.W.S Agustini, 2006. *Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga Porphyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong.
- Kusumaningtyas, E., Lusi S., Estie A. 2008. *Penentuan Golongan Bercah Senyawa Aktif Ekstrak n-heksan Alpinia galanga terhadap Candida albicans dengan Bioautografi dan Kromatografi Lapis Tipis*. JITV Vol. 13 No. 4 Th. 2008.
- Lampe MF, Ballweber LM, Isaacs CE, Patton DL, Stamm WE. 1998. *Killing of Chlamydia trachomatis by novel antimicrobial lipids adapted from compounds in human breast milk*. Antimicro. Agents Chemo., 45: 1239-1244.
- Lay, B.H. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Madigan, M., Hoogewerf, G. E., Jung, D.O. 2003. *Novel carotenoid glucoside esters from alkaliphilic heliobacteria*. Arch. Microbiol. 179:95-100.
- Manik, H dan Atmadja 2004. *Kandungan Kimiawi Beberapa Jenis Rumput Laut*. Buletin Teknik Litkayasa Aquaculture. Vol. 3 No.2.33-36 hal.
- Markham, 1998. *Trace Determination of Mo(VI) by Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry*. Acta Chim 52, 145-148.
- Mishra PM, Sree A. 2007. *Antibacterial Activity and GC-MS Anaylisis of The Extract of Leaves of Finlaysonia Obovate (A Mangrove Plant)*. Asi. J. Pi. Sci., 6 168-172.
- Munawaroh S. dan Handayani P.A. 2010. *Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix D. C) dengan Pelarut Etanol dan N-heksana*. Jurnal Kompetisi Teknik yol. 2, No. 1. 73-79.
- Moat, J. W., Albert, G. 2002. *Microbial Physiology*. The Fourth Edition.
- Myeek, M., J. 2001. *Farmakologi; Ulasan Bergambar Edisi 2*. Widya Medika, Jakarta.
- Pelezar, M.J dan E. C. S Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Alih Bahasa R. S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 88 hal.
- Pharmacopelal B. 1993. *Published On The Recommendation Of the Medicines Commission pursuant to the Medicines*. Act 1968, Volume 3.

- Pradhika, E. I. 2008. *Daya Kerja Antimikroba dan* .yanpusmeongblog.com. Diakses pada tanggal 7 Juni 2012.
- Prajitno, A. 2007. *Pengendalian Penyakit Vibrio harveyi dengan Ekstrak Rumput Laut pada Udang Windu (Penenus monodon Fab). PL-13. Disertasi.* Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.
- Pranowo, A.B. 2009. *Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid Dari Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola LinnL).* Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. Bali.
- Purnomo, M. 2001. *Isolasi Flavonoid dari daun Beluntas (Pluchea Indica Less) Yang Mempunyai Aktivitas Antimikroba Terhadap Penyebab Bau Keringat.* Universitas Airlangga.
- Reskika, A. 2011. *Evaluasi Potensi Rumput Laut Coklat (Phaeophyceae) dan Rumput Laut Hijau (Chlorophyceae) Asal Perairan Takalar Sebagai Antibakteri Vibrio spp.* Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Riniatsih, I dan Wilis A, R. 2009. *Bioaktivitas Ekstrak dan Serbuk Lamun Enhalus acoroides dan Thalassia hemprichii pada vibrio alginolyticus dan Vibrio harveyii.* Vol. 14 (3): 138 – 141.
- Ristiati, N. P. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Umum.* Proyek Pengembangan sekolah menengah IBRD Loan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi: Departemen Pendidikan Nasional.
- Rosyidah, K., Nolika, W.J., Komari N., 2012. *Isolasi dan Uji Toksisitas Senyawa Aktif Dari Ekstrak Metilena Klorida (MTC) Lengkuas Putih (Alpinia galanga (L) Willd).* Vol. 5, No. 2. November 2012.
- Roth, H.J dan Blaschke, G. 1985. *Analisis Farmasi.* Alih bahasa: Dr. Sarjono Kisman. Gadjah Mada University Press.
- Sa'ad, 2009. *Aktivitas Antibakteri Alga Laut Caulerpa racemosa Dari Perairan Pulau Nain.* Vol. VII-3, Desember.
- Sarker, S. D. dan Nahar, L. (2009). *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan. Kimia Organik, Alam Dan Umum.* Penerjemah: Abdul Rohman.
- Sastrohamidjojo, 2001. *Spektroskopi.* Liberty. Yogyakarta.
- Setiabudy, R. Dan V.H.S. Gan. 2005. *Pengantar Antimikroba dalam Farmakologi dan Terapi. Edisi keempat.* Unirversitas Indonesia, Jakarta.
- Simanjuntak, P. J. 1995. *Pengantar Ekonomi Sumber Daya Manusia.* Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia.
- Singarimbun, Masri dan Sofyan Effendi, 1983. *Metode Penelitian Survei, LP3E.* Jakarta.
- Siregar, A., F, Agus.,S, Dellanis P. 2012. *Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus epidermis, dan Micrococcus luteus.* Volume 1, nomer 2, Tahun 2012, Halaman 152-160. Universitas Diponegoro.

- Sjahid, 2008. Jenis-Jenis Rumput Laut Yang Berpotensi Sebagai Obat Yang Tumbuh Pada Berbagai Substrat di Pantai Ranababakan Nusa Kambangan, Cilacap.
- Suptijah, 2003. *Rumput Laut: Prospek dan Tantangannya*. Falsafah Sains - Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Surachmad, 1994. Laut Nusantara. Suatu Pendekatan Ekologis. Penerbit Djambatan. 367 hal.
- Susanto, W. H. 1999. *Teknologi Lemak dan Minyak Makan*. Jurusan THP Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Srivastava, J.N., Kumar V. 2011 *Antibacterial Activity of Crude Extracts of Spirulina Platensis and its Structural Elucidation of Bioactive Compound*. Departement of Botany. Dayalbagh. India.
- Ummah, M. K. 2010. *Ekstraksi dan pengujian aktivitas antibakteri senyawa Tanin pada daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Belimbi L)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Wikipedia^a, 2013. *n-heksan*. Diakses pada tanggal 10 Januari 2013.
- Wikipedia^b, *Sifat-Sifat Heksan*. Diakses pada tanggal 11 Januari 2013.
- Wikipedia^c. 2013. *Sifat Bakteri Gram Negatif*. Diakses pada tanggal 13 Mei 2013.
- Widodo, F.M. 2007. *Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak Gelidium latifolium Terhadap Candida albicans*. Volume 1, Nomor 1, Tahun 2012, Halaman 1-8.
- Wiyanto, D. B. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Kappaphycus alvarezii dan Eucheuma denticullatum Terhadap Bakteri Aeromonas hydrophila dan Vibrio harveyi*. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Brawijaya. Malang.

Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Media TCBSA

Tabel Komposisi Medium Thiosulphate Citrat Salt Bile Sucrose Agar
(TCBSA)

Formula	Gram per liter
Yeast Extract Powder	5
Bacteriological Pepton	10
Sodium Thosulphate	10
Sodium Citrat	10
Ox Bile	8
Sucrose	20
Sodium Chloride	10
Ferrc Citrat	1
Bro-thymol blue	0,04
Thymol-blue	0,04
Agar No.1	14

Sumber: Fardiaz (1993).

Prosedur Pembuatan :

1. Ditimbang 88 gram bubuk/powder medium TCBSA.
2. Dimasukkan erlenmayer 1 L.
3. Ditambahkan aquades sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.
4. Dimasukkan dalam *waterbath* suhu 100° C selama 15 menit.
5. Selama pemanasan di *waterbath* sesekali digoyang erlenmayer untuk membantu pelarutan (supaya homogen).
6. Jika sudah larut sempurna dan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlenmayer berarti media telah homogen.
7. Media dituangkan pada cawan steril ± 20 ml, tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas.
8. Jika sudah mengeras media dalam cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam untuk uji sterilisasi media.
9. Jika melewati uji sterilitas media sudah siap untuk digunakan.

Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Media MHA

Komposisi Medium Mueller Hinton Agar (MHA)

Formula	Gram per liter
Infusion Meat	2,0
Casein Hidrolisate	17,5
Starch	1,5
Agar	13

Sumber: Fardiaz (1993).

Prosedur Pembuatan :

1. Ditimbang 34 gram bubuk medium MHA.
2. Dimasukkan erlenmayer 1 L.
3. Ditambahkan aquades sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.
4. Dimasukkan dalam waterbath suhu 100°C selama 15 menit.
5. Selama pemanasan di waterbath sesekali digoyang erlenmayer untuk membantu pelarutan (supaya homogen).
6. Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlenmayer berarti media telah homogen.
7. Media dimasukkan dalam autoklaf suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit untuk proses sterilisasi.
8. Media dituangkan pada cawan steril \pm 20 ml, tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas.
9. Jika sudah mengeras media dalam cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji sterilisasi media.
10. Jika melewati uji sterilisasi media siap untuk digunakan.

Lampiran 3. Tahapan - Tahapan dalam pelaksanaan uji cakram metode Kirby-Bauer (1966)

1. Lempeng agar TSA dan TCBSA ditandai dengan nama, tanggal, dan mikroorganisme yang akan diuji.
2. Kapas Lidi (*cotton swab*) steril dicelupkan dalam suspensi biakan uji, dengan OD : 0,1 CFU/ml, kemudian kapas lidi diputar pada dinding tabung (diperas) agar cairan tidak menetas dari bagian kapas tersebut.
3. Sebar mikroorganisme pada seluruh permukaan lempeng agar dengan cara dioleskan, untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, kapas lidi dioleskan secara mendatar, kemudian diputar dengan agar 90° dan dibuat olesan kedua, dengan lempeng agar 45° dan dibuat olesan ketiga.
4. Lempeng agar dibiarkan mengering kurang lebih 5 menit, kemudian tempatkan kertas cakram yang sudah direndam dengan sampel yang diujikan pada permukaan lempeng agar.
5. Dalam 1 lempeng agar dapat digunakan 5-6 macam dosis perlakuan, jarak antara kertas cakram harus cukup luas, sehingga wilayah jernih tidak saling berhimpitan yang nantinya akan menyulitkan dalam proses pengukuran zona hambat.
6. Kertas cakram ditekan dengan pinset, tidak perlu terlalu keras karena akan merusak permukaan agar.
7. Lempeng yang sudah ditempelkan kertas cakram diinkubasi pada suhu optimal tumbuh dari bakteri patogen yang sedang diujikan.
8. Setelah bakteri uji sudah tumbuh merata, dan terlihat adanya zona jernih di permukaan agar, maka luas zona jernih dapat diukur dengan mengukur diameternya.

Lampiran 4. Prosedur Perhitungan DMSO 10% dan Konsentrasi 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm

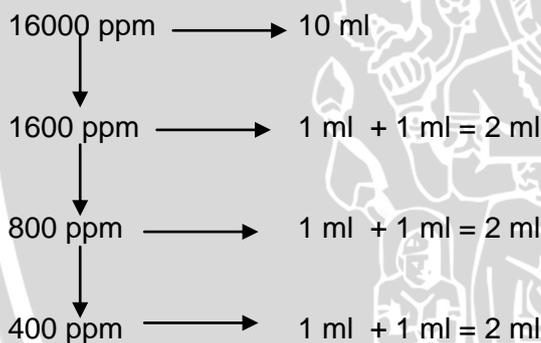
- DMSO 10% = 1 ml DMSO murni dilarutkan dalam aquadest sampai 10 ml
$$= \frac{1}{10} \times 100\% = 10\%$$
- 1 ppm = 1 mg/L = 1 µg/ml

Prosedur Pembuatan Stok 16000 ppm

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan} &= 16000 \text{ ppm} = 16000 \text{ mg/L} \\ &= 16000 \text{ mg}/1000 \text{ ml} \\ &= 16 \text{ mg}/1 \text{ ml} \\ &= 160 \text{ mg}/10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Total stock ekstrak = 160 mg = 0,16 gram dilarutkan dalam 10 ml DMSO 10 %

Perhitungan ppm



Lampiran 5. Senyawa Antibakteri Hasil GC-MS Ekstrak *Eucheuma cottonii* dengan pelarut Heksan

No	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak
1	Nonane	C ₁₀ H ₂₂	142	1
2	Octane	C ₁₀ H ₂₂	142	1
3	Pentadecane	C ₁₆ H ₃₄	226	1
4	Benzene, methyl	C ₇ H ₈	92	2
5	Benzene, (2-methylpropyl)	C ₁₀ H ₁₄	134	2
6	Ethene	C ₂ Cl ₄	164	3
7	Phenylethane	C ₈ H ₁₀	106	4
8	3-phenylbutan	C ₁₀ H ₁₄ O	150	5
9	2,3-heptanedione	C ₇ H ₁₂ O ₂	128	6
10	1,3,2-dioxathiolane	C ₆ H ₁₂ O ₃	164	6
11	Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	212	7, 18, 23, 25, 26, 28
12	n-Nonane	C ₉ H ₂₀	128	7
13	Undecane	C ₁₁ H ₂₄	156	8, 13, 18, 26
14	Tridecane	C ₁₃ H ₂₄	184	8
15	Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	198	8, 18, 23
16	4-heptanone, 2,6-dimethyl	C ₉ H ₁₈ O	142	9, 15
17	Tert-butyl methyl-3 oxopentanoate	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	186	10, 11
18	Butane, 2,2-dimethyl	C ₆ H ₁₄	86	10, 17
19	3-Hexanone 2,2-dimethyl	C ₈ H ₁₆ O	128	11
20	1-undecanol	C ₁₁ H ₂₄ O	172	12
21	1-dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	186	12
22	1-tetradecanol	C ₁₄ H ₃₀ O ₂	214	12
23	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	13
23	Tetradecene	C ₁₄ H ₂₈	196	14
24	1-Dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	186	14
25	Undecane, 5-methyl	C ₁₂ H ₂₆	170	15
26	Nonane	C ₉ H ₂₀	128	16
27	Acetyl decyl ether	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	19, 20
28	1-propenyl	C ₄ H ₆ O ₃	102	20
29	Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	226	21, 26, 30
30	3-hexadecene	C ₁₆ H ₃₂	224	22
31	3-tetradecene	C ₁₄ H ₂₈	196	22
32	3-octadecene	C ₁₈ H ₃₆	252	24, 27
33	3-eicosene	C ₂₀ H ₄₀	280	24, 27, 29
34	9-eicosene	C ₂₀ H ₄₀	280	24, 27, 29
35	Decosane	C ₂₂ H ₄₆	310	25
36	Nonane	C ₁₁ H ₂₄	156	25
37	Docosane	C ₂₂ H ₄₆	310	28
38	Decane, 6-ethyl	C ₁₃ H ₂₈	184	28
39	1-nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	266	29

Lampiran 6. Analisis Keragaman (ANOVA) Uji Cakram Bakteri *Vibrio Harveyii* dan *Bacillus cereus*

1. Data Diameter Zona Bening Antibakteri

1.1 Data Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Tabel. Rata-rata Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Ulangan		Total	Rata-Rata
	1	2		
Aa1	3,5	3	6,5	3,25
Aa2	2,9	3	5,9	2,95
Aa3	3,4	3,3	6,7	3,35
Ab1	5,3	5,1	10,4	5,2
Ab2	5,1	5,2	10,3	5,15
Ab3	6,8	5,9	12,7	6,35
Ac1	3,1	4	7,1	3,55
Ac2	3,9	4,1	8	4
Ac3	4,5	4,7	9,2	4,6
Ba1	3,9	3,7	7,6	3,8
Ba2	2,5	2,6	5,1	2,55
Ba3	3,7	3,5	7,2	3,6
Bb1	4,7	3,6	8,3	4,15
Bb2	5,4	3,9	9,3	4,65
Bb3	4,5	4,3	8,8	4,4
Bc1	3,5	3,3	6,8	3,4
Bc2	3,7	3,9	7,6	3,8
Bc3	4,7	4,5	9,2	4,6
			146,7	73,35

Keterangan Perlakuan :

- Aa1 : Konsentrasi bioaktif pelarut etanol 200 terhadap *Vibrio harveyii*
- Aa2 : Konsentrasi bioaktif pelarut etanol 400 terhadap *Vibrio harveyii*
- Aa3 : Konsentrasi bioaktif pelarut etanol 800 terhadap *Vibrio harveyii*
- Ab1 : Konsentrasi bioaktif pelarut n-heksan 200 terhadap *Vibrio harveyii*
- Ab2 : Konsentrasi bioaktif pelarut n-heksan 400 terhadap *Vibrio harveyii*
- Ab3 : Konsentrasi bioaktif pelarut n-heksan 800 terhadap *Vibrio harveyii*
- Ac1 : Konsentrasi antibiotik ampisilin 200 terhadap *Vibrio harveyii*
- Ac2 : Konsentrasi antibiotik ampisilin 400 terhadap *Vibrio harveyii*
- Ac3 : Konsentrasi antibiotik ampisilin 800 terhadap *Vibrio harveyii*
- Ba1 : Konsentrasi bioaktif pelarut etanol 200 terhadap *Bacillus cereus*
- Ba2 : Konsentrasi bioaktif pelarut etanol 400 terhadap *Bacillus cereus*
- Ba3 : Konsentrasi bioaktif pelarut etanol 800 terhadap *Bacillus cereus*
- Bb1 : Konsentrasi bioaktif pelarut n-heksan 200 terhadap *Bacillus cereus*
- Bb2 : Konsentrasi bioaktif pelarut n-heksan 400 terhadap *Bacillus cereus*
- Bb3 : Konsentrasi bioaktif pelarut n-heksan 800 terhadap *Bacillus cereus*
- Bc1 : Konsentrasi antibiotik ampisilin 200 terhadap *Bacillus cereus*
- Bc2 : Konsentrasi antibiotik ampisilin 400 terhadap *Bacillus cereus*
- Bc3 : Konsentrasi antibiotik ampisilin 800 terhadap *Bacillus cereus*

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis :

$$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = 0$$

H_1 = paling tidak ada sepasang T_i (nilai tengah) yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0,05(n-1)} \rightarrow$ terima H_0 ; tidak ada perbedaan sepasang T_i (tidak berbeda nyata)

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)} \rightarrow$ terima H_1 dan tolak H_0 ; perbedaan sepasang T_i nyata

$f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \rightarrow$ terima H_1 ; perbedaan sepasang T_i sangat nyata

2.2 Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

2.2.1 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum total)^2}{n} = \frac{(146,7)^2}{36} = \frac{21520,89}{36} = 597,80$$

2.2.2 Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} JK \text{ total} &= (3,5^2 + 2,9^2 + 3,4^2 + 5,3^2 + \dots + 4,5^2) - FK \\ &= 629,67 - 597,80 \\ &= 31,87 \end{aligned}$$

2.2.3 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} Jk \text{ perlakuan} &= \frac{(6,5^2 + 5,9^2 + 6,7^2 + 10,4^2 + 10,3^2 + \dots + 9,2^2) - FK}{2} \\ &= 626,80 - 597,80 \\ &= 29 \end{aligned}$$

2.2.4 Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 31,87 - 29 \\ &= 2,87 \end{aligned}$$

2.3 Analysis of variance (ANOVA)

Tabel. Analisis Ragam Daya Hambat Antibakteri Terhadap *Vibrio harveyii*

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	KT (JK/db)	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	1	29	29	362,5	4,12	7,42
Galat	34	2,87	0,08			
Total	35	31,87				

Kesimpulan : $f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \rightarrow$ terima H_1 ; perbedaan sepasang T_i sangat nyata.

2.4 Interpretasi

Pelarut heksan dengan konsentrasi 800 ppm memberikan daya hambat terbesar terhadap bakteri *Vibrio harveyii* jika dibandingkan dengan pelarut etanol serta kontrol antibiotik ampisilin yang diujikan.

3. Menentukan Jenis Pelarut yang Paling Potensial (Uji BNJ 5%)

3.1 Perhitungan BNT 5%

F hitung > F tabel

BNT 5%

$$BNT_a = t_a \times \sqrt{\frac{2(S)^2}{ulangan}}$$

$$\begin{aligned} BNT_{0,05} &= t_{0,05(34)} \times \sqrt{\frac{2(0,08)^2}{2}} \\ &= 1,69092 \times 0,08 \\ &= 0,135 \end{aligned}$$

4. Kesimpulan

Berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan, pelarut heksan dengan konsentrasi 800 ppm memberikan zona hambat terbesar terhadap bakteri *Vibrio harveyii*.

Lampiran 7. Analisis Keragaman (ANOVA) Uji Cakram Bakteri *Vibrio harveyi*

3. Data Diameter Zona Bening Antibakteri terhadap *Vibrio harveyi*

3.1 Hasil Uji Cakram terhadap *Vibrio harveyi* Secara Duplo

Tabel. Hasil Uji Cakram Secara Duplo

Faktor	Konsentrasi	Ulangan zona hambat (mm)							
		1		2		3		4	
		A	B	A	B	A	B	A	B
A (Ekstrak <i>E.cottonii</i>)	400 (a)	2,9	3,0	1,4	1,5	1,2	1,2	0,1	0,2
	800 (b)	2,7	2,6	1,3	1,3	1,5	1,6	0,3	0,3
	1600 (c)	2,9	2,8	2,1	2,0	1,9	2,0	0,2	0,3
B (Kontrol Ampicilin)	400 (a)	6,25	6,3	8,2	8,2	7,5	7,4	5,8	5,9
	800 (b)	7,7	7,8	9,9	9,8	7,3	7,4	7,7	7,8
	1600 (c)	8,7	8,6	10,6	10,6	9,65	9,6	8,9	8,8

3.2 Data Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Tabel. Rata-rata Diameter Zona Hambat

Perlakuan (Konsentrasi)	Ulangan				Total	Rata-Rata
	1	2	3	4		
Aa	2,95	1,45	1,2	0,3	5,9	1,48
Ab	2,65	1,3	1,55	0,3	5,8	1,45
Ac	2,85	2,05	1,95	0,25	7,1	1,78
Ba	6,28	8,2	7,45	5,85	27,78	6,95
Bb	7,75	9,85	7,35	7,75	32,7	8,18
Bc	8,65	10,6	9,63	8,85	37,73	9,43
					117,03	9,43

Keterangan :

- Aa: Ekstrak *Eucheuma cottonii* 400 ppm
- Ab: Ekstrak *Eucheuma cottonii* 800 ppm
- Ac: Ekstrak *Eucheuma cottonii* 1600 ppm
- Ba: Kontrol Ampicilin 400 ppm
- Bb: Kontrol Ampicilin 800 ppm
- Bc: Kontrol Ampicilin 1600 ppm

4. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis :

$$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = 0$$

H_1 = paling tidak ada sepasang T_i (nilai tengah) yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0,05(n-1)} \rightarrow$ terima H_0 ; tidak ada perbedaan sepasang T_i (tidak berbeda nyata)

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)} \rightarrow$ terima H_1 dan tolak H_0 ; perbedaan sepasang T_i nyata

$f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \rightarrow$ terima H_1 ; perbedaan sepasang T_i sangat nyata

2.2 Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

2.2.1 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(\sum total)^2}{n} - \frac{(117,03)^2}{24} = \frac{13696,02}{24} = 570,67$$

2.2.2 Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} JK \text{ total} &= (2,95^2 + 1,45^2 + 1,2^2 + 0,3^2 + \dots + 8,85^2) - FK \\ &= 8666,05 - 570,67 \\ &= 295,38 \end{aligned}$$

2.2.3 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} Jk \text{ perlakuan} &= \frac{(5,9^2 + 5,8^2 + 7,1^2 + 27,78^2 + 32,7^2 + 37,73^2)}{4} - FK \\ &= 823,57 - 570,67 \\ &= 275,19 \end{aligned}$$

2.2.4 Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 295,98 - 275,19 \\ &= 20,19 \end{aligned}$$

2.3 Analysis of variance (ANOVA)

Tabel. Analisis Ragam Daya Hambat Antibakteri Terhadap *Vibrio harveyii*

Sumber Keragaman (SK)	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	KT (JK/db)	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	275,19	91,73	90,8668	3,098	4,93
Galat	20	20,19	1,0095			
Total	23	295,38				

Kesimpulan : $f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \rightarrow$ terima H_1 ; perbedaan sepasang T_i sangat nyata.

2.4 Interpretasi

Ekstrak antibakteri *Eucheuma cottonii* memiliki daya hambat yang lebih kecil terhadap bakteri *Vibrio harveyii* jika dibandingkan dengan kontrol antibiotik ampisilin. Perbedaan efektivitas terhadap bakteri *Vibrio harveyii* dipengaruhi oleh ekstrak *Eucheuma cottonii* dan ampisilin.

3. Menentukan Jenis Pelarut yang Paling Potensial (Uji BNJ 5%)

3.1 Perhitungan BNT 5%

F hitung > F tabel

BNT 5%

$$BNT_a = t_a \times \sqrt{\frac{2(S)^2}{ulangan}}$$

$$BNT_{0,05} = t_{0,05(20)} \times \sqrt{\frac{2(1,0095)^2}{4}}$$

$$= 2,085 \times 0,714$$

$$= 1,498$$

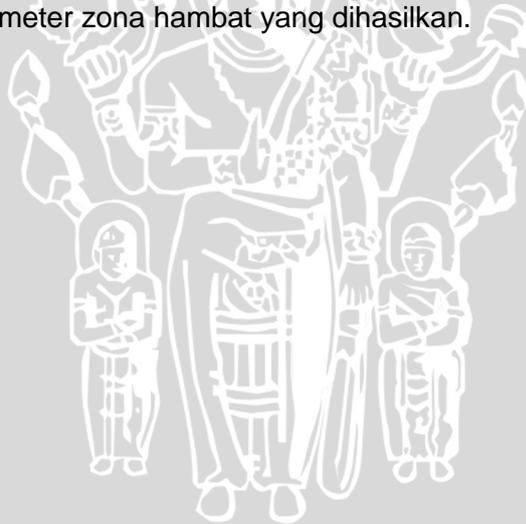
3.2 Notasi BNT 5%

Tabel. Kolom Notasi BNT 5%

Rata-rata Diameter	Ab(5,8)	Aa(5,9)	Ac(7,1)	Ba(27,78)	Bb(32,7)	Bc(37,73)
Ab(5,8)	-	-	-	-	-	-
Aa (5,9)	0,1	-	-	-	-	-
Ac(7,1)	1,3	1,2	-	-	-	-
Ba (27,78)	21,98	21,88	20,68	-	-	-
Bb (32,7)	26,9	26,8	25,6	4,92	-	-
Bc (37,73)	31,93	31,83	30,63	9,95	5,03	-
Notasi BNT _{0,05} =1,498	a	ab	ac	d	de	e

4. Kesimpulan

Berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan ampisilin memiliki zona hambat yang paling besar bila dibandingkan dengan ekstrak *Eucheuma cottonii*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka berpengaruh terhadap besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan.



Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

1. *Eucheuma cottonii* segar



2. Pencucian dengan aquades



3. *Eucheuma cottonii* diangin-anginkan



4. *Eucheuma cottonii* dipotong kecil-kecil



5. *Eucheuma cottonii* ditimbang 200 gram



6. *Eucheuma cottonii* dihaluskan



7. *Eucheuma cottonii* direndam dengan heksan teknis 96 %



8. Penyaringan ekstrak *Eucheuma cottonii*



9. Pemisahan pelarut dengan *vacuum rotary evaporator*



10. Ekstrak Heksan



11. Uji Cakram



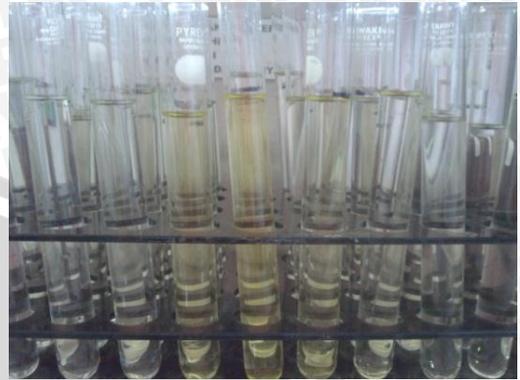
12. Hasil Uji Cakram diinkubator suhu ruang (37°C) selama 1x24 jam



13. Uji kolom sampel setelah di evaporator



14. Hasil Uji Kolom



15. Uji UV-Vis



16. Uji FT-IR



17. Uji GC-MS

