

repository.ub.ac.id

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum* spp DARI PELARUT

ASETON dan ETIL ASETAT DENGAN PERBANDINGAN 75:25

TERHADAP *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus*

aureus

SKRIPSI

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN

Oleh :

MARTIN LUTHER MEHA

NIM. 105080313111014



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum* spp DARI PELARUT

ASETON dan ETIL ASETAT DENGAN PERBANDINGAN 75:25

TERHADAP *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus*

aureus

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

MARTIN LUTHER MEHA

NIM. 105080313111014



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum* spp DARI PELARUT
ASETON dan ETIL ASETAT DENGAN PERBANDINGAN 75:25 TERHADAP
PERTUMBUHAN *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus
aureus***

Oleh :

Martin Luther Meha

NIM. 105080313111014

Telah dipertahankan didepan penguji

pada tanggal 06 Agustus 2014

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Yahya, MP

NIP: 19630706 199003 1 003

Tanggal :

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Muhammad Firdaus

NIP. 19650919 200501 1 001

Tanggal :

Dosen Penguji II

Dr. Ir. Bambang Budi S., MS

NIP: 19570119 198601 1 001

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS

NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS

NIP. 19620805 198603 2 001

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, Agustus 2014

Mahasiswa

Martin Luther Meha

105080313111014

RINGKASAN

MARTIN LUTHER MEHA (NIM 105080313111014). Skripsi Tentang Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Sargassum* spp Dari Pelarut Aseton dan Etil Asetat Dengan Perbandingan 75:25 Terhadap *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Dibawah Bimbingan **Dr. Ir. Muhamad Firdaus., MP** dan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih., MS**)

Sargassum spp termasuk jenis alga coklat merupakan sumber potensi senyawa bioaktif yang mengandung antibakteri alami. *Sargassum* spp segar diperoleh dari perairan Madura, Jawa Timur. Ekstrak *Sargassum* spp dilarutkan menggunakan perpaduan pelarut aseton dan etil asetat dengan perbandingan masing-masing 3:1. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri pathogen yaitu *E. coli*, *S. typhii* dan *S. aureus*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp terkuat untuk menghambat *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta Mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak terkuat *Sargassum* spp. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mekatronika Fakultas Teknologi Pangan Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Forensik Cabang Surabaya POLDA Surabaya Jawa Timur pada bulan April 2014 sampai Juni 2014.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif untuk mencapai tujuan utama yaitu mengetahui daya hambat ekstrak rumput laut *Sargassum* spp dengan pelarut aseton dan etil asetat terhadap bakteri *E. coli*, *S. typhii* dan *S. aureus*. Dalam penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian adalah ekstrak bioaktif *Sargassum* spp. 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.

Berdasarkan hasil analisis data dengan menggunakan uji fitokimia didapatkan bahwa *Sargassum* spp mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antibakteri antara lain; alkaloid, saponin dan flavonoid. Hasil analisis dengan metode GC, terdapat 4 senyawa antibakteri yang terekstrak dari *Sargassum* spp antara lain Cyclononasiloxane, Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol, Eicosamethylcyclodecasiloxane dan *Silicone Oil*. Hasil dari ketiga konsentrasi yaitu 15.000, 10.000 dan 5000 ppm yang digunakan sebagai konsentrasi ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp yang menghasilkan daya antibakteri terbaik terdapat pada konsentrasi 15000 ppm. Sedangkan untuk kontrol tetrasiklin didapatkan hasil diameter zona hambat terbaik pada bakteri *S.aureus*.

Disarankan pada penelitian selanjutnya agar digunakan ekstrak murni dari *Sargassum* spp dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan pemurnian ekstrak agar dihasilkan daya hambat yang lebih luas.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan yang Maha Esa, atas berkat dan karunianya, penulis bisa menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Sargassum* spp Dari Pelarut Aseton dan Etil Asetat Dengan Perbandingan 75:25 Terhadap *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Laporan Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Ucapan terimakasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada :

1. Kedua orangtua dan keluarga besar atas doa, dukungan moril maupun materi dan motivasi yang luar biasa sehingga penulis bias menyelesaikan Laporan Skripsi ini.
2. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus., MP selaku dosen pembimbing satu yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan yang bermanfaat selama Skripsi ini.
3. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartianingsih., MS selaku dosen pembimbing satu yang juga telah memberikan pengarahan dan bimbingan yang bermanfaat selama Skripsi ini.
4. Semua teman-teman (Fishtech '10) yang sudah membantu, menemani, memberikan dorongan sehingga laporan ini bisa terselesaikan.
5. Seluruh pihak terkait yang telah membantu terselesaikannya Laporan Skripsi, saya mengucapkan banyak terimakasih.

Penulis menyadari laporan ini jauh dari kesempurnaan. Karena itu penulis mengharapkan saran, kritik yang membangun dari pembaca. Harapan kami, semoga laporan ini bisa bermanfaat bagi semua pihak.

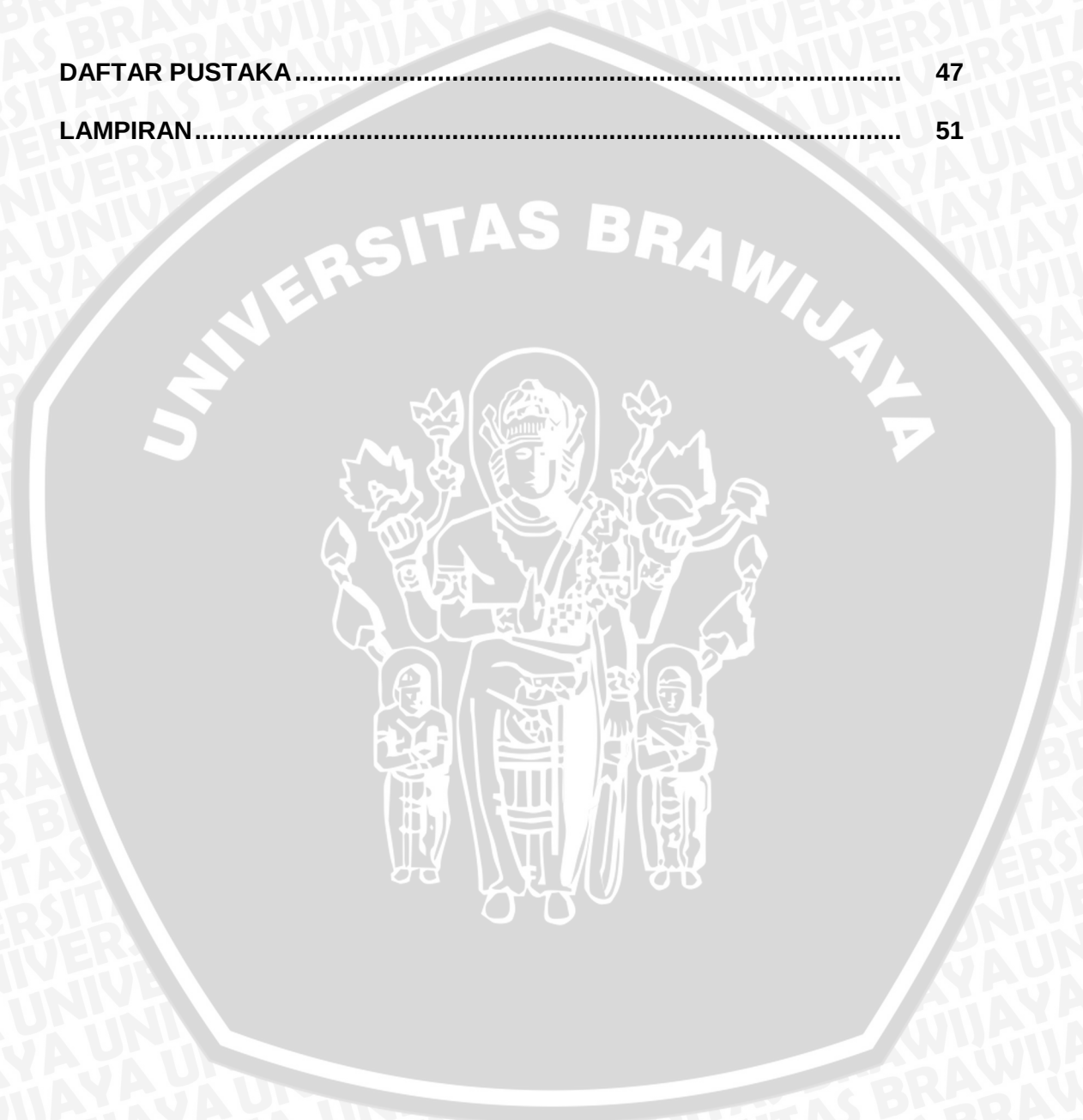
Malang, Agustus 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
RINGKASAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan.....	4
1.5 Waktu & Tempat.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Sargassum</i> sp	6
2.2 Ekstraksi Bioaktif	8
2.3 Senyawa Bioaktif.....	10
2.3.1 Alkaloid.....	11
2.3.2 Flavonoid.....	11
2.3.3 Saponin.....	12
2.3.4 Tanin.....	13
2.3.5 Terpenoid.....	14
2.3.6 Fenol.....	15
2.4 Antibakteri	16
2.4.1 <i>Salmonella typhi</i>	18
2.4.2 <i>Eschericia coli</i>	20
2.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Materi Penelitian	24
3.1.1 Alat Penelitian.....	24
3.1.2 Bahan Penelitian.....	24
3.2 Metode Penelitian	25
3.3 Prosedur Penelitian	26
3.3.1 Persiapan Bahan.....	30
3.3.2 Ekstraksi.....	31
3.4 Parameter Uji.....	32
3.4.1 Uji Fitokimia.....	32
3.4.2 Uji GC.....	33
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36

4.1 Uji Aktivitas Antibakteri	36
4.2 Uji Fitokimia	39
4.3 Identifikasi Senyawa Aktif	41
5. PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum</i> spp.....	6
2. Struktur Alkaloid.....	11
3. Struktur Flavonoid.....	12
4. Struktur Saponin.....	13
5. Struktur Tanin.....	14
6. Struktur Terpenoid.....	15
7. <i>Salmonella typhii</i>	19
8. <i>Eschericia coli</i>	20
9. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
10. Skema Kerja Ekstrak Aseton dan Etil Asetat <i>Sargassum</i> spp.....	27
11. Hasil Uji Antibakteri.....	36
12. Zona Bening <i>S. aureus</i> , <i>S. typhii</i> dan <i>E. coli</i>	37
13. Spektra Ekstrak Aseton dan Etil Asetat <i>Sargassum</i> spp.....	41
14. Struktur <i>Cyclononasiloxane</i> , <i>octadecamethyl</i>	42
15. Struktur <i>Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol</i>	42
16. Struktur <i>Eicosamethylcyclodecasiloxane</i>	42
17. Struktur <i>Silicone Oil</i>	43
18. Struktur Molekul Alkana.....	45



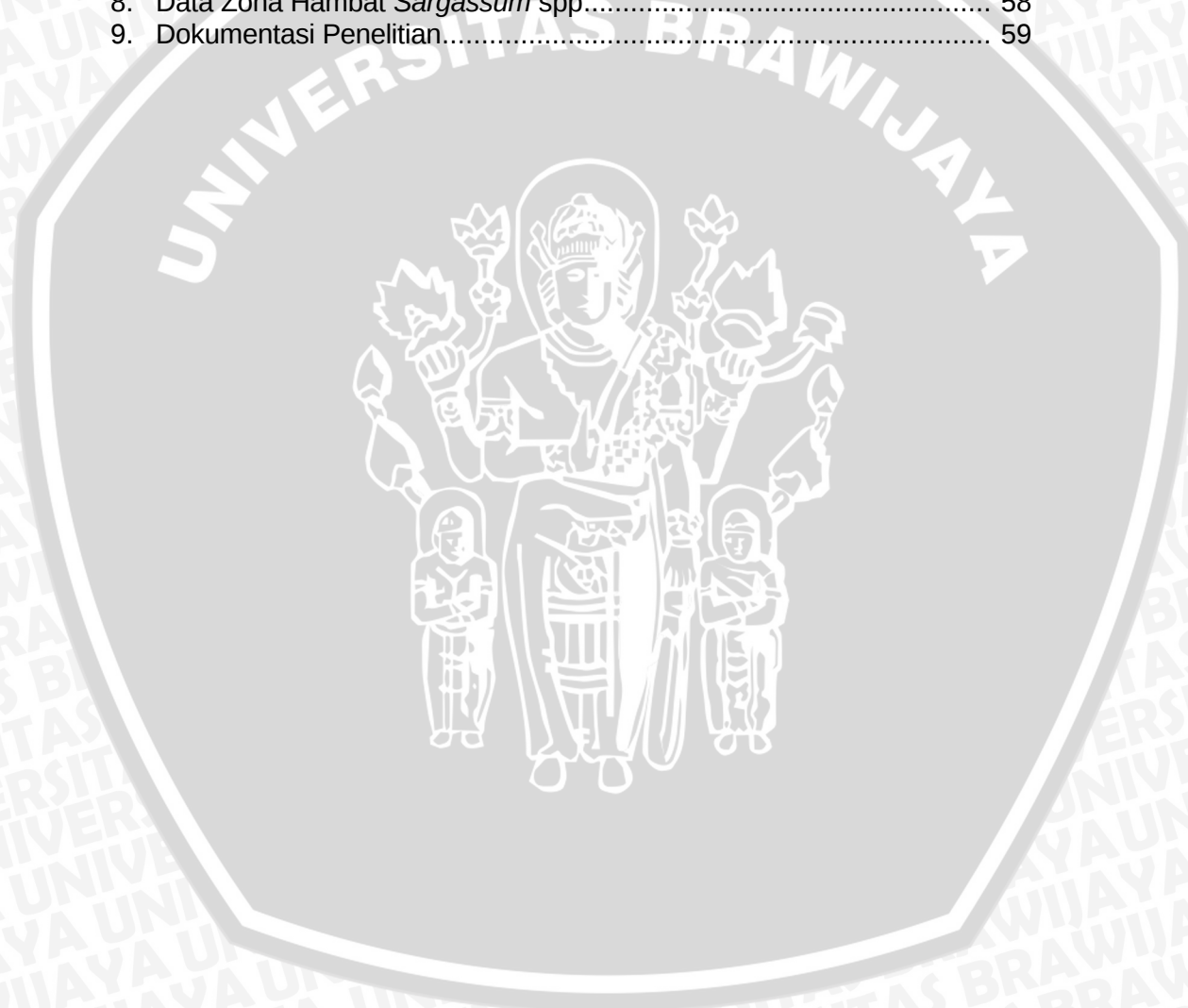
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia <i>Sargassum</i> spp	7
2. Kandungan Fitokimia Ekstrak Aseton dan Etil Asetat	39
3. Hasil Analisis GC Ekstrak Aseton dan Etil Asetat <i>Sargassum</i> spp.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Berat Ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan Pelarut.....	51
2. Rata-rata Rendemen Ekstrak	52
3. Pembuatan Media <i>Muller Hilton Agar</i> (MHA)	53
4. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Bauer	54
5. Pengenceran Bahan Uji	55
6. Perhitungan DMSO 4% dan Konsentrasi ppm	56
7. Senyawa Antibakteri Hasil GC.....	57
8. Data Zona Hambat <i>Sargassum</i> spp.....	58
9. Dokumentasi Penelitian.....	59



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sebagai Negara Kepulauan yang besar di dunia yang memiliki wilayah laut yang sangat luas, kurang lebih 70% wilayah Indonesia terdiri dari laut, yang pantainya kaya berbagai jenis sumber daya hayati. Sebagai Negara Kepulauan, Indonesia mempunyai panjang pantai kurang lebih 81.000 km dengan luas perairan pantai sekitar 6.846.000 km². Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia mempunyai potensi yang baik untuk mengembangkan dan memanfaatkan kekayaan lautnya, termasuk rumput laut (Sulistyawati, 2003).

Alga coklat merupakan sumber potensi senyawa bioaktif yang mengandung antibakteri alami. Kandungan metabolit sekunder dalam alga coklat sudah mulai diteliti antara lain kandungan *steroid*, *alkaloid*, *phenol* dan vitamin (Rachmaniar *et al.*, 1999). Putra (2006), menambahkan bahwa alga coklat bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi seperti sebagai antioksidan, anti tumor, anti kanker atau sebagai *reversal agent* dan industri agrokimia terutama untuk antioksidan, fungisida dan herbisida.

Di perairan Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis algae *Sargassum*. Algae *Sargassum* merupakan salah satu marga *Sargassum* termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. (Kadi, 2005). Sastry dan Rao (1994) menambahkan bahwa *Sargassum sp* memiliki kandungan tanin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhii*, *Escherichia coli*, dan *Bacillus cereus*.

Untuk pencegahan penularan penyakit melalui makanan perlu sekali dilakukan pencegahan pencemaran kuman pathogen pada makanan. Penyakit-

penyakit infeksi yang dapat ditularkan melalui makanan adalah infeksi *Shigella* dan *Salmonella*, disentri, infeksi *Streptococcus* dan hepatitis infeksius. Toksin kuman yang mungkin dibentuk dalam makanan dan menyebabkan keracunan ialah toksin dari *Staphylococcus*, *Clostridium*, *perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Bacillus cereus* (Jawetz et al., 1986).

Salah satu upaya dalam pencegahan penularan penyakit ini adalah dengan antibakteri. Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Dewi, 2010).

Senyawa antibakteri yang terkandung dalam berbagai ekstrak tanaman diketahui dapat menghambat bakteri patogen maupun perusak pangan (Frazier dan Westhoff, 1978). Senyawa antibakteri yang berasal dari tanaman, sebagian besar merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama golongan fenolik dan terpen dalam minyak atsiri dan alkaloid. Hasil penelitian Swantara et al. (2009), menyatakan bahwa senyawa steroid dan ester ditemukan pada ekstrak *Sargassum* sp. Kantachumpoo dan Chirapart (2010), melaporkan ekstrak dari *Sargassum* sp. yang menggunakan pelarut aseton dan etil asetat mengandung saponin, flavonoid dan alkaloid.

Menurut Harborne (1987), semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi, sehingga semakin tinggi juga kematian bakteri uji. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1986) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. 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.

Menurut penelitian Rosaline *et al.* (2012), aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut dengan menggunakan 3 jenis rumput laut *Chaetomorpha linum*, *Padina gymnospora* dan *Sargassum wightii* dan menggunakan 3 jenis pelarut yang bersifat polar, semi polar dan non polar. Jenis pelarut yang bersifat polar tidak menghasilkan zona bening sebagai antibakteri, sehingga dilakukan penelitian menggunakan pelarut yang bersifat non polar, salah satunya pelarut aseton.

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 (Ummah, 2010).

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah aseton dan etil asetat. Aseton larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol dan dietil eter. Aseton dan etil asetat juga merupakan pelarut yang penting dan biasa digunakan untuk membuat plastik, serat, obat-obatan, dan senyawa-senyawa kimia lainnya (Susanti *et al.*, 2012). Ditambahkan oleh Harborne (1987), etil asetat merupakan pelarut semipolar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel.

1.2 Rumusan Masalah

Pemanfaatan *Sargassum* spp masih memerlukan kajian yang meliputi:

- Pada konsentrasi berapa *Sargassum* spp dapat menghasilkan antibakteri terkuat terhadap bakteri *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
- Senyawa apa saja yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

- Mendapatkan konsentrasi ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp terkuat untuk menghambat *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
- Mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak terkuat *Sargassum* spp sehingga dapat menghambat *Salmonella typhii*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

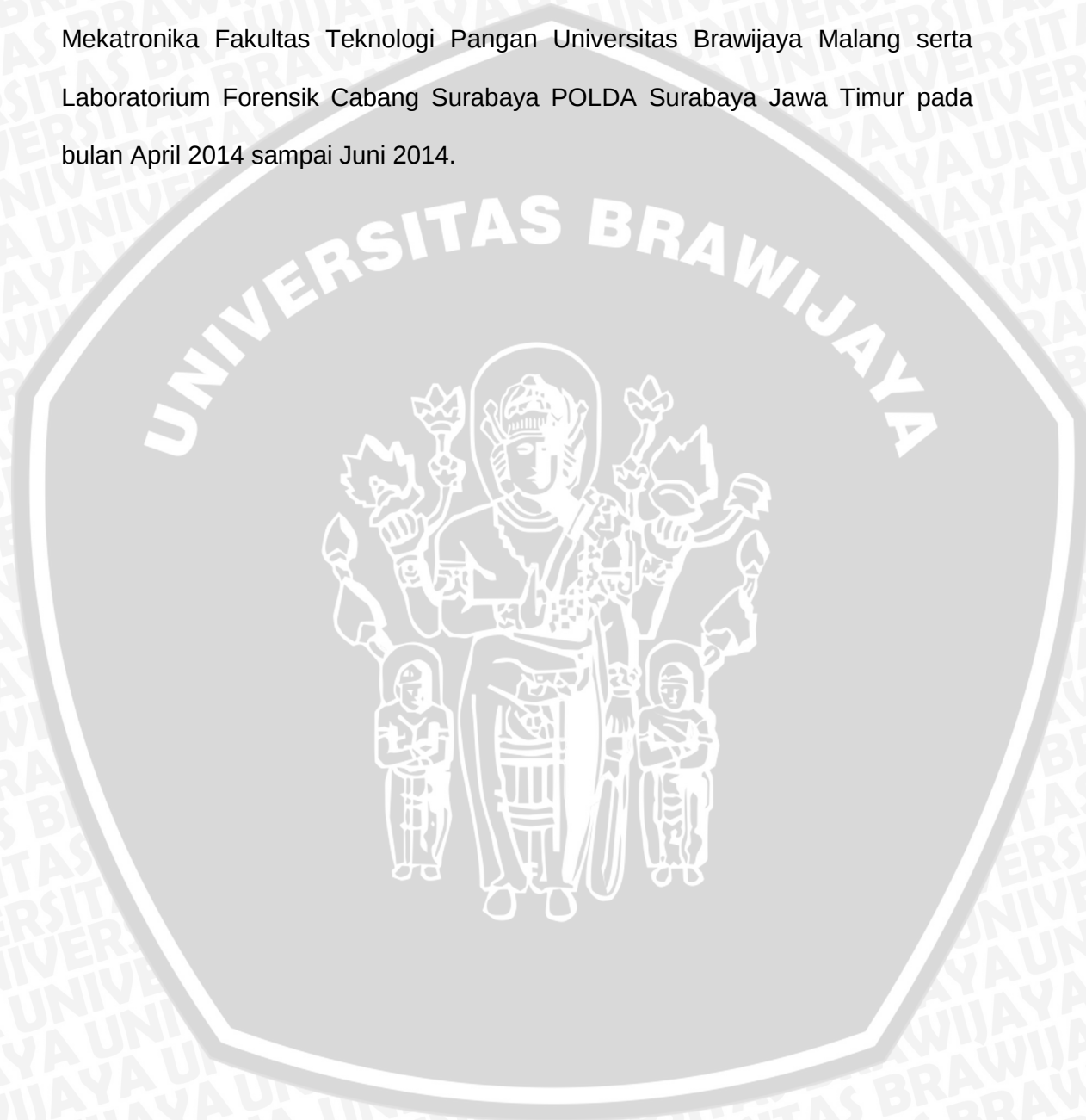
1.4 Kegunaan

Adapun kegunaan penelitian ini diharapkan :

- Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kegunaan rumput laut coklat (*Sargassum* spp) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhii* dan *Staphylococcus aureus*.
- Masyarakat dapat memanfaatkan rumput laut coklat (*Sargassum* spp) sebagai antibakteri alami yang potensial.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mekatronika Fakultas Teknologi Pangan Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Forensik Cabang Surabaya POLDA Surabaya Jawa Timur pada bulan April 2014 sampai Juni 2014.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum sp*

Sargassum adalah salah satu genus dari kelompok rumput laut coklat yang merupakan genera terbesar dari Famili Sargassaceae. Klasifikasi *Sargassum* menurut Bold dan Wayne (1985) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Thallophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucalus
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum sp</i>

Sargassum memiliki bentuk yang mirip dengan bentuk tumbuhan darat, dengan akar, batang, dan daun-daunnya. Disamping itu masih dilengkapi dengan gelembung-gelembung udara yaitu alat untuk mengapung. Pada umumnya ganggang ini melekat pada sebuah benda keras, misalnya karang mati. Gambar *Sargassum sp* dapat dilihat pada Gambar 1 berikut ini:



Gambar 1. *Sargassum sp*

Sargassum sp atau alga coklat merupakan salah satu genus *Sargassum* yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. *Sargassum sp* mengandung bahan alginat dan iodin yang bermanfaat bagi industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Bachtiar *et al.*, 2012).

Sargassum mempunyai ciri-ciri sebagai berikut; berbentuk thallus yang umumnya silindris atau gepeng dan cabangnya rimbun menyerupai pohon darat. Bentuk daun *Sargassum* melebar, lonjong seperti pedang. Mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter dan panjangnya mencapai 7 meter (di Indonesia terdapat 3 jenis yang panjangnya 3 meter). Warna thallus umumnya coklat dan daun *Sargassum* merupakan bagian yang banyak mengandung alginat (Aslan, 2006).

Komponen utama dari alga adalah karbohidrat (*sugars or vegetable gums*), sedangkan komponen lainnya yaitu protein, lemak, abu (sodium dan potasium)(Ishibashi *et al.* 1960 dalam Chapman 1970) dan air 80-90 % (Chapman 1970). Komposisi kimia *Sargassum* menurut Yunizal (2004) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia *Sargassum* Spp

Parameter	<i>Sargassum</i> Spp
Air	11,71 %
Protein	5,53 %
Lemak	0,74 %
Abu	34,57 %
Karbohidrat	19,06 %
Serat Kasar	28,39 %

Sargassum spp merupakan salah satu jenis rumput laut coklat yang potensial untuk dikembangkan. *Sargassum* spp telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas, dan lain-lain. Hasil ekstraksi *Sargassum* spp berupa alginat banyak digunakan industri makanan bukan sebagai penambah nilai gizi, tetapi menghasilkan dan memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pastel isi dan kue-kue (Percival 1970 dalam Yunizal 2004).

Di bidang farmasi, *Sargassum* spp juga telah banyak dimanfaatkan. Angka dan Suhartono (2000) melaporkan bahwa ekstrak *Sargassum* spp dapat dijadikan obat penurun kolesterol, zat anti bakteri dan anti tumor, sedangkan

menurut Supriadi(2008) *Sargassum* dapat dijadikan sebagai bahan baku obat cacing.

2.2 Ekstraksi Bioaktif

Ekstraksi merupakan proses pemisahan dengan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut kedalam pelarut (Houghton dan Rahman, 1998 dalam Siregar *et al.*, 2012). Ditambahkan oleh Purwani *et al.*, (2008), ekstraksi pelarut menyangkut distribusi suatu zat terlarut (*solute*) diantara dua fasa air yang tidak saling bercampur. Teknik ekstraksi sangat berguna untuk pemisahan secara cepat dan bersih baik untuk zat organik maupun zat anorganik. Cara ini dapat digunakan untuk analisis makro maupun mikro. Melalui proses ekstraksi, ion logam dalam pelarut airditarik keluar dengan suatu pelarut organik (fasa organik). Secara umum, ekstraksi ialah proses penarikan suatu zat terlarut dari larutannya didalam air oleh suatu pelarut lain yang tidak dapat bercampur dengan air (fasa air). Tujuan ekstraksi ialah memisahkan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan pelarut.

Pada penelitian ini menggunakan pelarut aseton dan etil asetat, dimana kedua pelarut dicampurkan dengan perbandingan 1:3 pada saat *Sargassum* spp dimaserasi untuk memperoleh ekstrak kasar dari *Sargassum* spp.

Menurut Maulida dan Zulkarnaen (2010), proses pemisahan dengan cara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar antara lain, proses penyampuran sejumlah massa bahan kedalam larutan yang akan dipisahkan komponen-komponennya, proses pembentukan fase seimbang dan proses pemisahan kedua fase seimbang.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena cara ini merupakan metode yang mudah dilakukan dan menggunakan alat-alat sederhana, cukup dengan merendam sampel dalam pelarut, pelarut yang

digunakan adalah *methanol* karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun senyawa non polar. Semua filtrat yang diperoleh dari hasil ekstraksi diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental (Andayani *et al.*, 2008).

Pemilihan metode maserasi dilakukan karena eter merupakan pelarut dengan titik didih rendah (30°C) dan memiliki sifat mudah menguap dan terbakar jika dipanaskan sehingga tidak memungkinkan dilakukan proses ekstraksi dengan pemanasan, misalnya dengan teknik sokhletasi (Susanti, 2012)

Ekstraksi adalah proses penarikan kompones atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan tertentu. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar. Prinsip dasar ekstraksi berdasarkan kelarutan. Untuk memisahkan zat terlarut yang diinginkan atau menghilangkan komponen zat terlarut yang tidak diinginkan dari fase padat, maka fase padat dikontakkan dengan fase cair. Pada kontak dua fase tersebut, zat terlarut terdifusi dari fase padat ke fase cair hingga terjadi pemisahan dari komponen padat (Tamat *et al.*, 2007).

Prinsip dari ekstraksi ini adalah memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak (Septiana dan Asnani, 2012).

Prinsip ekstraksi maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel, sehingga isi sel akan larut dalam pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan tersedak keluar dan

diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut akan berlangsung secara terus-menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Medicafarma, 2008).

2.3 Senyawa Bioaktif

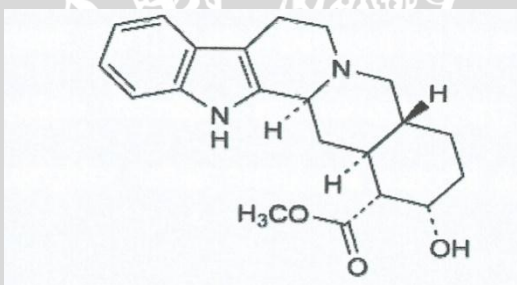
Bioaktif adalah zat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang memiliki manfaat kesehatan dalam tubuh. Ditinjau secara biologi, alga merupakan kelompok tumbuhan yang berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. Alga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon,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

Komponen bioaktif merupakan kelompok senyawa fungsional yang terkandung dalam bahan pangan dan dapat memberikan pengaruh biologis. Sebagian besar komponen bioaktif adalah kelompok alkohol aromatik seperti polifenol dan komponen asam (*phenolic acid*). Komponen bioaktif tidak terbatas pada hasil metabolisme sekunder saja, tetapi juga termasuk metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional, seperti protein dan peptida (Kannan *et al.*, 2009).

2.3.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan terbesar dari senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Pada umumnya alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid seringkali bersifat racun bagi manusia, tetapi beberapa alkaloid memiliki aktivitas farmakologis dan digunakan secara luas dalam bidang kesehatan (Harborne 1987). Senyawa ini pada tumbuhan berfungsi untuk melindungi diri dari predator karena bersifat racun pada satwa misalnya serangga, sebagai zat perangsang dan pengatur tubuh dan membantu aktivitas metabolisme dan reproduksi tumbuhan (Verpoorte dan Alfermann 2000 *dalam* Daluningrum 2009). Menurut Shimura *et al.* (1992) *dalam* Ruiz *et al.* (2005), alkaloid merupakan salah satu senyawa yang dipercaya sebagai sumber inhibitor lipase dalam ekstrak tanaman sehingga mampu menghambat aktivitas lipase pankreas. Berikut ini adalah struktur alkaloid yang dapat dilihat pada gambar 2.

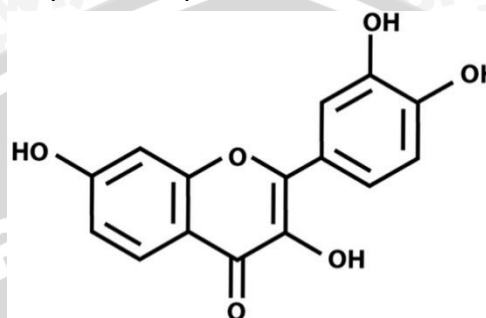


Gambar 2. Struktur Alkaloid (Google image, 2014)

2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan dan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid (Harborne, 1987). Flavonoid dapat diklasifikasikan menjadi flavon, flavonol, flavanon, flavononon, isoflavon, calkon, dihidrokalkon, auron, antosianidin, katekin dan flavan-3,4-diol (Sirait, 2007). Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari, dan akar. Flavonoid sangat efektif untuk digunakan sebagai antioksidan (Astawan dan

Kasih 2008). Flavonoid memberikan kontribusi keindahan dan kesemarakan pada buah-buahan di alam. Flavon memberikan warna ungu tua hingga, antosianidin memberikan warna merah, ungu atau biru, yaitu semua warna yang terdapat pada pelangi kecuali hijau (Sastrohamidjojo 1996 dalam Andriyanti 2009). Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.



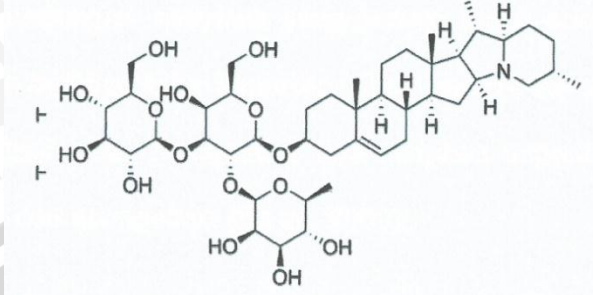
Gambar 3. Struktur Flavonoid (Google image, 2014)

Flavonoid pada tumbuhan berfungsi dalam pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus serta kerja terhadap serangga (Robinson 1995 dalam Andriyanti 2009). Dalam kehidupan manusia, flavon bekerja sebagai stimulant pada jantung. Flavon terhidrosilasi bekerja sebagai diuretik dan sebagai antioksidan pada lemak (Sirait, 2007). Flavonoid dalam ekstrak tanaman dipercaya sebagai sumber inhibitor lipase sehingga mampu menghambat aktivitas lipase pankreas (Shimura *et al.* 1992 dalam Ruiz *etal.* 2005). Menurut Woo *et al.* (2008) dalam Xia *et al.* (2010), Polifenol dan flavonoid dalam jumlah yang tinggi secara signifikan juga mampu mereduksi bahaya obesitas dan hiperlipidemia.

2.3.3 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol yang terdeteksi pada lebih dari 90 jenis tumbuhan. Saponin merupakan senyawa yang bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa (Harborne, 1987). Saponin menyebabkan stimulasi pada jaringan tertentu, misalnya pada epitel hidung, bronkus, ginjal dan sebagainya. Stimulasi pada

ginjal diperkirakan menimbulkan efek diuretika. Saponin dapat digunakan sebagai prekursor hormonsteroid (Sirait 2007). Struktur saponin dapat dilihat pada Gambar 4.



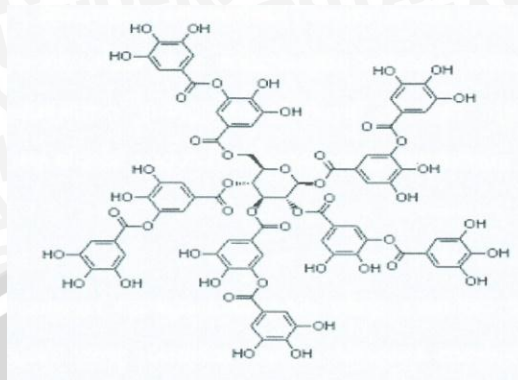
Gambar 4. Struktur Saponin (Google image, 2014)

Menurut Shimura *et al.* (1992) dalam Ruiz *et al.* (2005), saponin juga dipercaya sebagai sumber inhibitor lipase sehingga mampu menghambat aktivitas lipase pankreas. Ekstrak kasar saponin dari ginseng merah Korea menunjukkan efek antiobesitas pada tikus yang diberikan pakan tinggi lemak yaitu dapat menurunkan bobot badan, konsumsi pakan dan penyimpanan lemak dalam tubuh (Kim *et al.* 2005). Total saponin diketahui secara signifikan menghambat aktivitas lipase pankreas. Selain itu, telah dilaporkan juga bahwa berbagai macam isolasi saponin dari bahan makanan atau obat alami mempunyai aksi obesitas (Kawano-Takahashi *et al.* 1986; Han *et al.* 2001 dalam Xu *et al.* 2005) atau aksi antihipolipidemia (Kimura *et al.* 1983 dalam Xu *et al.* 2005).

2.3.4 Tanin

Tanin adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang memiliki kemampuan untuk mengendapkan protein dengan membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi hampir terdapat di semua paku-pakuan dan gimnospermae serta tersebar luas dalam angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Sedangkan tanin terhidrolisis penyebarannya hanya terbatas

pada tumbuhan berkeping dua (Harborne, 1987). Struktur tanin dapat dilihat pada Gambar 5.



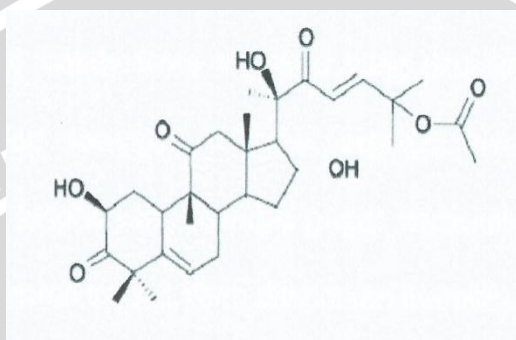
Gambar 5. Struktur Tanin (Google image, 2014)

Senyawa tanin yang terkandung dalam daun jati belanda dapat mengendapkan mukosa protein yang ada di dalam permukaan usus halus sehingga dapat mengurangi penyerapan makanan, dengan demikian proses obesitas (kegemukan) dapat dihambat. Pada tanaman Asam Jawa, senyawa tanin dapat meningkatkan degradasi atau peluruhan lemak, melalui suatu peningkatan metabolisme dalam tubuh sehingga terjadi proses pembakaran timbunan lemak. Selain itu, peluruhan lemak oleh senyawa aktif tanin melalui pendekatan pemecahan lemak dikatalisis oleh enzim lipase. Ekstrak yang bersifat aktivator enzim bersifat dapat mendegradasi lemak sehingga mempunyai potensi sebagai obat pelangsing alami (Hayati, 2008).

2.3.5 Terpenoid

Terpena merupakan senyawa hidrokarbon yang mempunyai struktur umum $C_{10}H_{16}$, dan terdapat dalam bentuk diterpena, triterpena, tetrapena serta sesquiterpena, berturut-turut dengan C_{20} , C_{30} , C_{40} , C_5 , dan C_{15} . Terpena yang mengandung elemen lain (biasanya oksigen) disebut terpenoid. Terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang, virus dan protozoa. Mekanisme Terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan

polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999). Terpenoid memiliki berat molekul sebesar 464,6 g/mol (Cruz, 2007). Struktur terpenoid dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur Terpenoid (Google image, 2014)

2.3.6 Fenol

Fenol adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengandung cincin aromatik dengan satu atau 2 gugus hidroksil. Fenol cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida atau terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 2006). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid (Apak *et al.*, 2007).

Beberapa senyawa fenol telah diketahui fungsinya. Misalnya lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai pigmen. Namun beberapa lainnya hanya sebatas dugaan sementara. Senyawa fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Semua senyawa fenol merupakan senyawa aromatik sehingga semua menunjukkan serapan kuat terhadap spektrum UV. Fenol dapat dibagi menjadi 2 kelompok,

yaitu fenol sederhana dan polifenol. Contoh fenol sederhana : orsinol, 4-metilresolsinol, 2- metilresolsinol, resolsinol, katekol, hidrokuinon, pirogallol dan floroglusinol. Contoh polifenol adalah lignin, melanin dan tanin (Harborne, 2006).

2.4 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, 2005).

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005).

Senyawa antibakteri yang terkandung dalam berbagai ekstrak tanaman diketahui dapat menghambat bakteri patogen maupun perusak pangan (Frazier dan Westhoff, 1978). Senyawa antibakteri yang berasal dari tanaman, sebagian besar merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama golongan fenolik dan terpen dalam minyak atsiri dan alkaloid. Beberapa senyawa antibakteri alami yang berasal dari tanaman diantaranya adalah fitoaleksin, asam organik, minyak esensial (atsiri), fenolik, dan beberapa kelompok pigmen atau senyawa sejenis (Herbert, 1995).

Yunus *et al.* (2009), menyatakan bahwa alga laut memiliki potensi sebagai sumber antibakteri. Salah satunya yang dilaporkan yaitu ekstrak metanol dari 56 rumput laut yang berasal dari kelas Chlorophyta (alga hijau), Phaeophyta (alga cokelat) dan Rhodophyta (alga merah). Dari ketiga kelas rumput laut tersebut, rumput laut cokelat memiliki aktivitas antibakteri tertinggi.

Masuknya antibakteri ke dalam sel dapat melalui beberapa cara antara lain melalui asam teikoat yang hanya ditemui pada dinding sel dan membran dinding sel dan membran sel dari gram positif. Asam teikoat diketahui mempunyai muatan negatif sehingga dapat membatasi macam substansi yang akan diikat dan diteruskan dalam sel. Selain itu dapat melalui adsorpsi yang mempengaruhi permeabilitas dan porositas dinding sel yang akan menyebabkan terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga membentuk sel yang tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel (Kurnia, 2010).

Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih

sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk kedalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Kusmiati dan Agustini, 2006).

2.4.1 *Salmonella typhii*

Salmonella merupakan bakteri batang gram-negatif. Karena habitat aslinya yang berada di dalam usus manusia maupun binatang, bakteri ini dikelompokkan ke dalam *enterobacteriaceae* (Brooks, 2005). Klasifikasi *Salmonella* terbentuk berdasarkan dasar epidemiologi, jenis inang, reaksi biokimia, dan struktur antigen O, H, V ataupun K. Antigen yang paling umum digunakan untuk *Salmonella* adalah antigen O dan H. Antigen O, berasal dari bahasa Jerman (Ohne), merupakan susunan senyawa lipopolisakarida (LPS). LPS mempunyai tiga region. *Region I* merupakan antigen O-spesifik atau antigen dinding sel. Antigen ini terdiri dari unit-unit oligosakarida yang terdiri dari tiga sampai empat monosakarida. Polimer ini biasanya berbeda antara satu isolat dengan isolat lainnya, itulah sebabnya antigen ini dapat digunakan untuk menentukan subgrup secara serologis. *Region II* merupakan bagian yang melekat pada antigen O, merupakan *core polysaccharide* yang konstan pada genus tertentu. *Region III* adalah *lipid A* yang melekat pada *region II* dengan ikatan dari 2-keto-3-deoksioktonat (KDO). *Lipid A* ini memiliki unit dasar yang merupakan disakarida yang menempel pada lima atau enam asam lemak. Bisa dikatakan *lipid A* melekatkan LPS ke lapisan *murein-lipoprotein* dinding sel (Dzen, 2003).

Salmonella typhii dapat memproduksi asam hasil fermentasi dan H_2S , tumbuh pada suhu optimum $37^{\circ}C$ dengan pH 4 – 9 serta memiliki aw minimum 0,94 (Varnam dan Sutherland, 1995). *Salmonella typhii* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*, memiliki bentuk batang, anaerob fakultatif dan memiliki flagella peritrikat. Bakteri ini sangat sensitif terhadap panas sehingga dapat

dimusnahkan dengan proses pasteurisasi (Fardiaz, 1989). Berikut ini merupakan taksonomi dari *Salmonella* sp menurut D'aoust (2001) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Camma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Spesies	: <i>Salmonella</i> sp

Aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri *S. typhii* yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri dan selanjutnya merusak struktur lipid dari DNA bakteri akibat perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid yang menyebabkan inti sel bakteri lisis dan mengalami kematian. Mekanisme aktivitas biologis oleh senyawa flavonoid ini berbeda dengan yang dilakukan oleh senyawa alkaloid, dimana senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Sedangkan pada senyawa alkaloid memanfaatkan sifat reaktif gugus basanya untuk bereaksi dengan gugus asam amino pada sel bakteri *S. typhii* (Pasaribu dkk, 2008). Untuk lebih jelas lagi gambar bakteri *Salmonella typhii* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. *Salmonella typhi* (Kunkel (2001) dalam Pollack, 2003)

2.4.2 *Escherichia coli*

Menurut Juliantina *et al.*, (2008) Klasifikasi *E. Coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Prokaryota
Divisio	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>E. coli</i>

E. coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motil aktif dan tidak membentuk spora. Pembiakkan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C. *E. coli* mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul (Juliantina *et al.*, 2008). Berikut ini merupakan gambar bakteri *Escherichia coli* pada media LA, inkubasi 37°C selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. *Escherichia coli* (Hedetniemi dan Liao, 2006).

Senyawa fenol merupakan senyawa sebagai antimikroba. Mekanisme penghambatan *E. coli* oleh fenol sebagai berikut : (1) merusak dinding sel sehingga mengakibatkan lisis atau menghambat proses pembentukan dinding sel pada sel yang sedang tumbuh; (2) mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrisi dari dalam sel; (3)

mendenaturasi protein sel; (4) merusak sistem metabolisme di dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler (Peoloengan *et al.*, 2006).

2.4.3 *Staphylococcus Aureus*

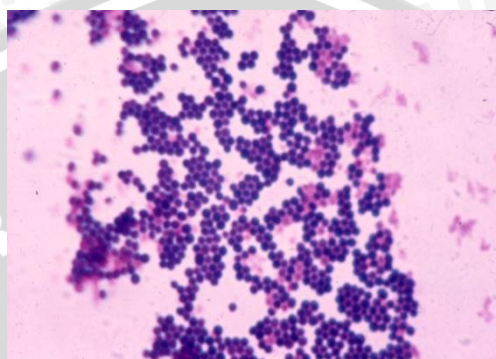
Berikut ini merupakan Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Bergey dalam Capuccino (2001:

Kingdom	: Procaryota
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus merupakan bakteri berbentuk kokus/bulat, tergolong dalam bakteri Gram-positif, bersifat aerobik fakultatif, dan tidak membentuk spora. Toksin yang dihasilkan bakteri ini bersifat tahan panas sehingga tidak mudah rusak pada suhu memasak normal. Bakteri dapat mati, tetapi toksin akan tetap tertinggal. Toksin dapat rusak secara bertahap saat pendidihan minimal selama 30 menit. Pangan yang dapat tercemar bakteri ini adalah produk pangan yang kaya protein, misalnya daging, ikan, susu, dan daging unggas; produk pangan matang yang ditujukan dikonsumsi dalam keadaan dingin, seperti salad, puding, dan *sandwich*; produk pangan yang terpapar pada suhu hangat selama beberapa jam; pangan yang disimpan pada lemari pendingin yang terlalu penuh atau yang suhunya kurang rendah; serta pangan yang tidak habis dikonsumsi dan disimpan pada suhu ruang (BPOM, 2012).

S. aureus menghasilkan koagulase, dijumpai pada selaput hidung, kulit, kantung rambut, dapat menyebabkan keracunan makanan, serta komplikasi pada influenza. Keracunan makanan yang umum terjadi karena termakannya toksin yang dihasilkan oleh galur-galur toksigenik *S. aureus* yang tumbuh pada makanan tercemar. Pada umumnya gejala-gejala mual, pusing, muntah, dan

diare muncul 2 sampai 6 jam setelah makan makanan tercemar itu. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 20-35 °C dengan berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik dan mikrofilik. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lambat dan mengkilat (Jawetz *et al.*, 1995). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. *Staphylococcus aureus* (googleimage, 2014)

Pengobatan terhadap infeksi *S. aureus* biasanya menggunakan berbagai jenis antibiotik seperti tetrasiklin, vankomisin atau penisilin resisten β -laktamase. Perbedaan jenis obat yang diberikan dipertimbangkan dari angka resistensi bakteri terhadap suatu antibiotik. Dari hasil penelitian ini menyatakan bahwa dari 361 kultur positif *S. aureus* 67,9% masih sensitif terhadap seluruh antibiotik yang diujikan, 32,1% resisten terhadap satu atau dua agen antibiotik, 21,1% resisten terhadap satu jenis antibiotik dan 10,5% resisten terhadap dua atau lebih antibiotik. Adapun antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah tetrasiklin, oxacillin, gentamicin, eritromisin, klorampenikol dan trimetoprim-sulfametoxazole (Hastari, 2012).

Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Flavonoid juga bersifat lipofilik yang akan merusak membran mikroba. Di dalam flavonoid mengandung suatu senyawa fenol. Pertumbuhan bakteri *S. aureus* dapat terganggu disebabkan senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang

bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Kondisi asam oleh adanya fenol dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* (Rahayu, 2000).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Adapun alat-alat yang digunakan dalam ekstraksi adalah corong, botol plastik, gelas ukur 100 mL, spatula, *rotary vacuum evaporator Janke dan Kunkel RV 06-ML*, neraca analitik dan botol vial 3mL. Peralatan yang digunakan untuk uji cakram antara lain autoklaf, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikro pipet 1000 μ L, jarum ose, cawan petri, waterbath, inkubator, pinset, triangle, bunsen, korek api dan vortex mixer. Untuk identifikasi kandungan senyawa aktif antibakteri, peralatan yang digunakan yaitu 1 unit GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) *Agilent Technologies inert MSD 5975C with Triple-Axis Detector*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, timbangan digital, pipet tetes, dan pipet volume 10mL.

3.1.2 Bahan Penelitian

Sargassum spp segar diperoleh dari perairan Madura, Jawa Timur. Pada saat pemanenan *Sargassum* spp dicuci dengan menggunakan air laut. Dicuci untuk membersihkan pasir dan sisa lumpur dan kotoran lainnya yang masih melekat.

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

Bahan yang digunakan untuk ekstraksi antibakteri rumput laut *Sargassum* spp yaitu pelarut aseton dan etil asetat pro analisis. Bahan lain yang digunakan adalah aquades yang diletakkan pada *waterbath* untuk proses pemekatan ekstrak kasar rumput laut (pemisahan pelarut dari ekstrak) melalui *rotary vacuum evaporator*.

Bahan yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri yakni pelarut yang digunakan untuk pengenceran ekstrak *Sargassum* spp yaitu dimetil sulfoksida (DMSO) konsentrasi 4%. Sedangkan pada uji cakram bahan yang digunakan antara lain kertas cakram (*paper disc*) yang masing-masing berdiameter 6 mm, *cotton swap*, aquadest, tissue, kertas label, alkohol 70%, serta biakan murni *S. aureus*, *E. Colli*, dan *S. typhii* yang diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Media kultur yang digunakan berupa media cair NB (*Nutrient Broth*) untuk penyetakan bakteri uji dan media MHA merck (*Mueller Hinton Agar*) untuk pengujian aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut. Serta tetrasiklin digunakan sebagai indikator pembanding daya antibakteri dengan ekstrak rumput laut. Pada uji fitokimia bahan yang digunakan adalah asam sulfat, pereaksi dragendorff, kloroform dan FeCl_3 .

3.2 Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini menggunakan metode deskriptif untuk mencapai tujuan utama yaitu mengetahui daya hambat ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp terhadap bakteri *S. aureus*, *E. Colli*, dan *S. typhii*.

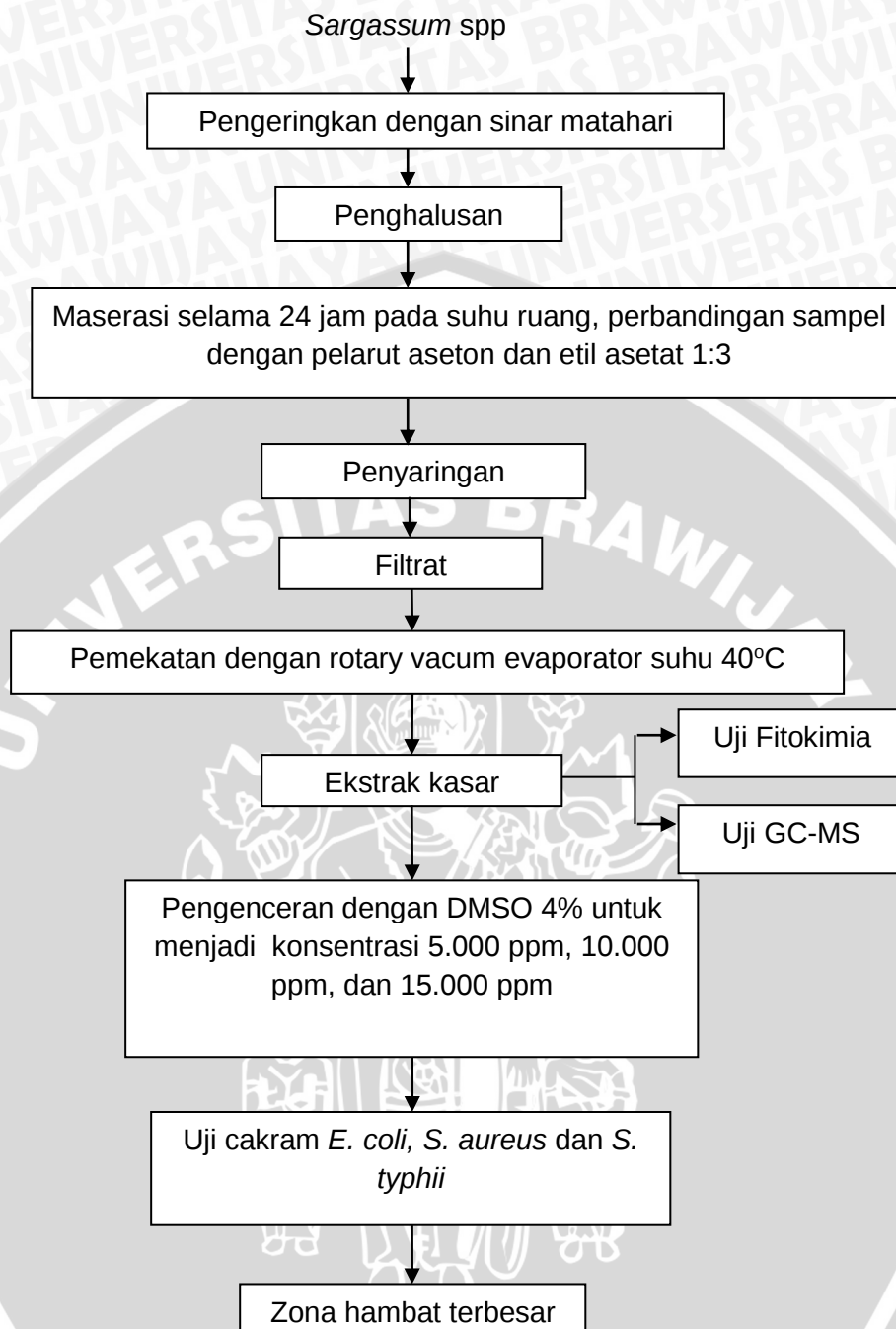
Menurut Surakhmad (1994), metode deskriptif merupakan metode penyelidikan yang menuturkan dan mengklasifikasikan data yang diperoleh dari berbagai teknik pengambilan data. Tujuan dari pelaksanaan metode deskriptif adalah untuk memaparkan secara sistematis, faktual, dan akurat mengenai fakta

serta sifat dari suatu populasi tertentu. Pengumpulan data sesuai dengan tujuan dan secara rasional kesimpulan diambil dari data yang berhasil dikumpulkan.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian tentang aktivitas antibakteri *Sargassum* spp terhadap bakteri *S. aureus*, *S. typhi* dan *E. coli* melalui 3 tahapan, antara lain: Tahap 1 yaitu persiapan sampel dan pengeringan di bawah sinar matahari yang bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai rendemen pengeringan dan uji fitokimia yang bertujuan untuk mendapatkan deskripsi kandungan fitokimia dari *Sargassum* spp.

Tahap 2 yaitu proses ekstraksi dengan pelarut aseton yang dimaksudkan untuk memperoleh hasil rendemen ekstrak. Uji antibakteri terhadap ekstrak *Sargassum* spp yang dimaksudkan untuk mendapatkan informasi hasil zona penghambatan dari ekstrak *Sargassum* spp terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *S. Typhii*. Tahap 3 yaitu identifikasi senyawa bioaktif *Sargassum* spp. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan gambaran mengenai senyawa tunggal yang paling kuat menghambat *E. coli*, *S. aureus* dan *S. typhii*. Adapun skema kerja daya hambat ekstrak rumput laut *Sargassum* spp. terhadap penghambatan *E. coli*, *S. aureus* dan *S. typhii* secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Skema kerja daya hambat ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp terhadap penghambatan bakteri *S. aureus*, *E. Colli*, dan *S. typhii*

Rumput laut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 3 jenis rumput laut cokelat jenis *Sargassum* spp sebagai bahan baku utama yang diperoleh dari Desa Ponjuk, Pulau Talango, Sumenep Perairan Madura. Pada saat pemanenan *Sargassum* spp dicuci dengan menggunakan air laut. Dicuci untuk membersihkan pasir dan sisa lumpur dan kotoran lainnya yang masih melekat pada *Sargassum* spp. *Sargassum* spp dimasukkan ke dalam kantong plastik warna hitam. Kemudian *Sargassum* spp dimasukkan kedalam *coolbox* lalu diberi es balok dan bagian luar *coolbox* disegel dengan lakban untuk mempertahankan suhu rendah (*cold chain system*) dalam *coolbox* selama proses transportasi. Selang waktu pengangkutan dari tempat pemanenan ke laboratorium adalah 5 jam.

Sargassum spp dilakukan pengeringan di bawah sinar matahari yang bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai rendemen pengeringan dan uji fitokimia yang bertujuan untuk mendapatkan deskripsi kandungan fitokimia dari *Sargassum* spp. Pengeringan dengan menggunakan sinar matahari selain panasnya merata juga sangat mudah ditemukan karena tersedia di alam sepanjang hari. Kemudian dilakukan penghalusan dengan menggunakan mesin penggiling dimana tujuan penggilingan untuk memperluas pori-pori pada ekstrak *Sargassum* spp.

Sargassum spp dilakukan perendaman (maserasi) selama 24 jam pada suhu ruang. Tujuan dari maserasi yaitu untuk menarik senyawa bioaktif yang terkandung didalam *Sargassum* spp. Maserasi dengan menggunakan sampel dan pelarut dengan perbandingan sampel : pelarut yaitu 1:3. *Sargassum* spp sebanyak 50 gram : 150 mL pelarut aseton. Kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring whattman ukuran 1 dipisahkan antara filtrat dan residunya. Filtrat yang diperoleh dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 40° C selama 15 menit.

Tujuan dari rotary vacuum evaporator yaitu untuk memisahkan antara filtrat dan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kasar dari *Sargassum* spp.

Pada Uji Fitokimia berpedoman pada jurnal dari Prihanto *et al.*, (2011) menyebutkan bahwa pada uji alkaloid yaitu 5 mL ekstrak *Sargassum* spp ditambahkan 2 mL HCl kemudian ditambahkan reagen Dragendorff. Positif alkaloid ditunjukkan dengan adanya warna oranye atau merah. Pada uji flavonoid yaitu 1 mL ekstrak *Sargassum* spp ditambahkan beberapa tetes sodium hidroksida. Positif flavonoid ditunjukkan dengan adanya kehilangan warna kekuningan pada ekstrak *Sargassum* spp setelah ditetesi asam. Dan pada uji saponin yaitu ekstrak *Sargassum* spp 0,5 gram ditambahkan 5 mL akuades dalam tabung reaksi dan dikocok kemudian ditambahkan 3 tetes minyak zaitun dan dikocok ulang dengan cepat. Positif saponin ditunjukkan dengan adanya emulsi atau busa. Kemudian dilakukan uji GC (*Gas Cromatografi*) dengan menggunakan mesin GCMS Agilent Technologies 5975C inert MSD with Triple-Axis Detector.

Pengenceran dengan menggunakan DMSO 4% dimana DMSO 4% diperoleh dari 4 mL DMSO murni dilarutkan dalam akuades sebanyak 100 mL. Prosedur Pembuatan Stok 15000 ppm diperoleh dengan 15 mg dilarutkan dalam 1 mL DMSO 4%. Prosedur Pembuatan Stok 10000 ppm diperoleh dengan 0,67 mL dilarutkan dalam 0,33 mL DMSO 4%. Dan prosedur Pembuatan Stok 5000 ppm diperoleh dengan 0,5 mL dilarutkan dalam 0,5 mL DMSO 4%.

Uji cakram dilakukan dengan untuk mengetahui konsentrasi yang memberikan diameter daerah hambatan terbesar dilakukan uji cakram, yaitu pengujian antibakteri dengan mengukur diameter zona hambatan yang terjadi disekitar kertas cakram yang sudah mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Dengan demikian dapat diketahui efektivitas atau pengaruh perlakuan terhadap diameter zona hambat *E. coli*, *S. aureus* dan *S.*

typhii. Kepadatan bakteri yang digunakan sesuai dengan standart kepadatan McFarland 0,5 yaitu 10^6 koloni/mL.

Biakan murni *E. coli*, *S. aureus* dan *S. typhii* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Bakteri yang digunakan untuk setiap kali uji antibakteri harus diregenerasi terlebih dahulu. Langkah pertama yang dilakukan pada saat preparasi bakteri adalah membuat biakan pada agar miring dengan cara menggoreskan biakan dari stok bakteri ke media MHA (*Muller Hilton Agar*) dengan kemiringan media 45° . Bakteri yang telah digoreskan pada media MHA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Kertas cakram direndam dalam ekstrak dengan berbagai konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm dan 15000 ppm selama ± 30 menit. Kertas cakram yang telah direndam ditempelkan di atas agar MHA yang telah disentrik bakteri uji. Kemudian diinkubasi pada suhu 27°C didalam inkubator selama 24 jam. Diamati dan diukur zona penghambatan yang terdapat pada masing-masing cakram. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan jangka sorong.

3.3.1 Persiapan Bahan

Rumput laut yang digunakan adalah *Sargassum* spp yang diperoleh dari perairan Sumenep, Madura sebanyak 10 kg. Sampel yang sudah didapat dijemur menggunakan alas kertas koran dan dikeringkan dibawah sinar matahari. Proses penjemuran ini dilakukan selama 2-3 hari dengan tujuan untuk menghilangkan kadar air pada *Sargassum* spp. Rumput laut yang kering kemudian dihaluskan dengan alat penggiling dengan tujuan untuk mendapatkan tepung dari rumput laut *Sargassum* spp. Setelah dihaluskan, sampel ditimbang untuk mendapatkan rendemen.

Rendemen adalah berat akhir setelah perlakuan. Perhitungan rendemen dilakukan sebanyak 2 kali yaitu pada proses pengeringan sampel dan hasil ekstraksi. Pada pengeringan sampel, perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar air yang keluar (menguap) akibat proses pemanasan. Adanya kadar air yang terlalu banyak pada sampel yang akan diekstraksi akan membuat hasil ekstraksi kurang maksimal. Rumus perhitungan rendemen pengeringan dan rendemen ekstraksi adalah:

$$\text{Rendemen pengeringan} = \frac{\text{berat akhir (setelah perlakuan)}}{\text{berat awal (sebelum perlakuan)}} \times 100\%$$

3.3.2 Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi. Sampel *Sargassum* spp. halus ditimbang sebanyak 50 gr, kemudian sampel dimasukkan ke dalam botol plastik dan dimasukkan pelarut aseton dan etil asetat. Perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1 : 3 (b/v). Selanjutnya larutan dimaserasi selama 24 jam dengan ditutup *alufo* dibagian atasnya agar tidak menguap dan disimpan pada suhu ruang (27°C) untuk melepaskan senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum* spp. Setelah dimaserasi, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat (cair) dan residu (padat). Filtrat yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengentalan dengan cara memisahkan pelarut ekstrak dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu 40°C agar pelarut dapat terpisah tanpa merusak senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp. Ekstrak kemudian ditimbang untuk mendapatkan berat akhir. Selanjutnya ekstrak dimasukkan ke dalam botol vial sehingga diperoleh ekstrak kasar *Sargassum* spp yang terbebas dari pelarut.

Metode perhitungan rendemen berdasarkan Pambayun *et al.*, (2009), yaitu rendemen ekstraksi adalah bahan terekstrak dibagi dengan bahan baku dikalikan 100. Pada proses ekstraksi sampel, perhitungan rendemen dilakukan

untuk mengetahui jumlah kadar air yang keluar (menguap) akibat proses ekstraksi dari pelarut. Adanya kadar air yang terlalu banyak pada proses ekstraksi akan membuat hasil ekstraksi kurang maksimal. Rumus perhitungan rendemen ekstraksi yaitu:

$$\text{Rendemen ekstraksi} = \frac{\text{berat hasil ekstraksi}}{\text{berat sampel yang diekstraksi}} \times 100$$

3.4 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan pada penelitian ini yakni menggunakan dua uji yaitu uji fitokimia dan uji GC, berikut penjelasan dari masing-masing uji:

3.4.1 Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Analisa fitokimia yang dilakukan adalah uji alkaloid, tanin, terpenoid, flavonoid, dan saponin. Pengujian fitokimia berfungsi untuk mengidentifikasi kandungan fitokimia pada *Sargassum* spp.

Pengujian dilakukan dengan berpedoman pada penelitian Harborne (1987), ada beberapa uji fitokimia meliputi uji flavonoid, saponin, alkaloid, tannin dan terpenoid.

Untuk uji flavonoid dilakukan yaitu sampel direndam dalam metanol selama 5 menit dan ditambahkan H_2SO_4 sebanyak 5 tetes dan diamati adanya warna merah yang menunjukkan kandungan flavonoid.

Untuk uji saponin dilakukan yaitu sampel dididihkan dalam air panas. Busa yang stabil akan terus terlihat selama 5 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

Untuk uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan sampel dalam beberapa tetes asam sulfat 2 N kemudian diuji dengan 2 pereaksi alkaloid yaitu pereaksi

dragendorff dan pereaksi meyer. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga jingga dengan pereaksi dragendorff dan endapan putih kekuningan dengan pereaksi meyer.

Untuk uji tanin dilakukan yaitu sampel dididihkan kemudian disaring dan ditambahkan FeCl_3 adanya warna biru tua atau hijau kehitaman yang terbentuk menunjukkan adanya tanin.

Untuk uji terpenoid yaitu sampel ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 2 mL kloroform lalu ditambahkan 3 mL asam sulfat secara perlahan sampai terbentuk lapisan berwarna merah kecoklatan.

3.4.2 Uji GC (Gas Chromatography)

Uji GC dilakukan untuk mengetahui senyawa daya antibakteri dari ekstrak *Sargassum* spp terhadap *E. coli*, *S. typhii* dan *S. aureus*. Menurut analisis GC-MS dilakukan menggunakan mesin GCMS Agilent Technologies 5975C inert MSD with Triple-Axis Detector. Tahap pertama yang harus dilakukan untuk menggunakan GC-MS adalah melakukan preparasi sampel. Sampel harus dalam keadaan larutan untuk diinjeksikan ke dalam kromatografi GC-17A Agilent 5890 series II Plus. Prinsip uji GC-MS yaitu untuk mengetahui kandungan zat yang terdapat pada sampel. Syarat sampel uji tidak boleh mengandung air, hal tersebut dikarenakan air dapat merusak kolom karena diameter kolom yang relatif kecil. Kolom GC-MS digunakan sesuai zat masing-masing dengan panjang 60 m.

Langkah kedua adalah menginjeksikan sampel sebanyak 1 μL ke dalam kolom kapiler Hp 5-MS melalui heated injection port. Kemudian sampel dibawa oleh gas pembawa yaitu helium dengan laju alir sebesar 0,7 mL/min, melewati kolom kapiler kemudian dipanaskan dalam oven yang bertujuan untuk mempermudah proses pemisahan komponen sampel. Panjang kolom yang digunakan pada alat GC-MS ini sepanjang 30 m, fase diamnya adalah kepolaran

sampel sedangkan fase geraknya adalah gas pembawa yaitu helium. Suhu injektor GC ditetapkan 295°C sehingga suhu oven ditetapkan 70°C selama 2 menit dan kemudian meningkat sebesar 10°C/menit sampai 295°C selama 28 menit.

Sampel yang telah melewati kolom akan diionisasi oleh elektron dari filamen *tungsten* yang diberi tegangan listrik. Hal tersebut menyebabkan satu elektron lepas, sehingga terbentuk ion molekular M^+ , yang memiliki massa sama dengan molekul netral, tetapi bermuatan lebih positif. Adapun perbandingan massa fragmen tersebut dengan muatannya disebut *mass to charge ratio* yang disimbolkan M/Z . Ion yang terbentuk akan didorong ke dalam *quadrupoles* atau *mass filter*. Pada *quadrupoles*, ion-ion dikelompokkan menurut M/Z dengan kombinasi frekuensi radio yang bergantian dan tegangan DC. Hanya ion dengan M/Z tertentu yang dilewatkan oleh *quadrupoles* menuju ke detektor. Dalam detektor terdiri atas *High Energy Dynodes* (HED) dan *Electron Multiplier* (EM) *detector*. Ion positif menuju HED, menyebabkan elektron terlepas. Elektron kemudian menuju kutub yang lebih positif, yakni ujung tanduk EM.

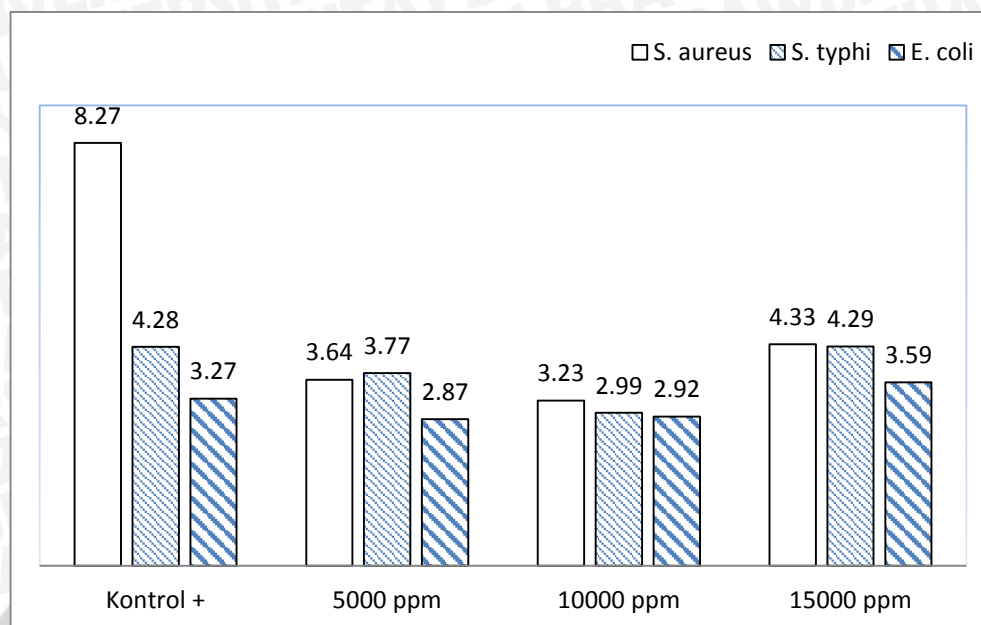
Ketika elektron menyinggung sisi EM, maka akan lebih banyak lagi elektron yang terlepas, menyebabkan sebuah arus/aliran. Kemudian sinyal arus dibuat oleh detektor proporsional terhadap jumlah ion yang menuju detektor. Lalu data dari detektor spektrometri massa dikirim ke komputer dan diplot dalam sebuah grafik yang disebut spektrum massa.

Prinsip kerja Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM) yaitu cuplikan diinjeksikan kedalam injektor. Aliran gas dari gas pengangkut akan membawa cuplikan yang telah teruapkan masuk kedalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen dari cuplikan. Komponen-komponen tersebut terelusi sesuai dengan urutan semakin membesarnya nilai koefisien partisi (K), selanjutnya masuk dalam spektrofotometer massa (MS). Pada spektroskopi

massa komponen cuplikan ditembaki dengan berkas electron dan diubah menjadi ion-ion muatan positif yang bertenaga tinggi (ion-ion molekuler atau ion-ion induk) dan dapat pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (ion-ion anak pecahan atau ion-ion induk), lepasnya elektron dari molekul/komponen-komponen menghasilkan radikal kation. Ion-ion molekuler, ion-ion pecahan dan ion-ion radikal pecahan dipisahkan oleh ion pembelokan dalam medan magnet yang berubah sesuai dengan massa dan muatannya. Perubahan tersebut menimbulkan arus pada kolektor yang sebanding dengan limpahan relatifnya. Kemudian dicatat sebagai spectra massa yang merupakan gambaran antara limpahan relatif dengan rasio massa/muatan (m/e) (Sastrohamidjojo, 1991).



(-) kontrol negatif : DMSO 4%



Gambar 12. Zona bening *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* pada ekstrak Aseton dan Etil Asetat *Sargassum* spp

Pada Gambar 12 memperlihatkan bahwa konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp yang efektif menghambat bakteri adalah pada konsentrasi 15.000 ppm. Hal ini diduga karena semakin tinggi konsentrasi tidak berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan. Dewi (2010) menambahkan dimana zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu. Sedangkan pada bakteri *S. aureus* dan *S. typhii* yang mempunyai efektifitas zona hambat pada konsentrasi tinggi, hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dann Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula.

Pada bakteri *S. aureus* mempunyai zona hambat yang lebih besar dari pada bakteri *S. typhii* dan *E. coli*, hal ini disebabkan bakteri *S. typhii* dan *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki sifat kurang sensitif terhadap

komponen antibakteri. Menurut Pelczar dan Chan (1988), struktur penyusun dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida sehingga mempersulit senyawa antibakteri masuk kedalam selnya dan menyebabkan zona bening yang dihasilkan lebih kecil jika dibandingkan dengan zona bening yang dihasilkan oleh bakteri *S. aureus* yang merupakan bakteri gram positif.

Diameter zona hambat antibakteri dari ekstrak *Sargassum* spp dapat dibandingkan dengan diameter zona hambat antibakteri kontrol positif dimana dalam hal ini menggunakan antibiotik tetrasiklin. Tetrasiklin merupakan kelompok antibiotika yang dihasilkan oleh jamur *Streptomyces aureofaciens* atau *S. rimosus*. Tetrasiklin merupakan derivat dari senyawa hidronaftalen, dan berwarna kuning. Tetrasiklin merupakan antibiotika berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif yang bekerja merintangi sintesa protein (Tan dan Rahardja, 2008). Dan kemudian ditambahkan oleh Mufidah *et al.*, (2010), antibiotik golongan tetrasiklin yang pertama kali ditemukan adalah klortetrasiklin yang dihasilkan oleh *Streptomyces aureofaciens*. Kemudian ditemukan oksitetrasiklin dari *Streptomyces rimosus*. Tetrasiklin sendiri dibuat secara semisintetik dari klortetrasiklin, tetapi juga dapat diperoleh dari spesies *Streptomyces* lain.

Ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Ardiansyah, 2005). Bakteri patogen dikatakan resisten terhadap tetrasiklin jika membentuk diameter zona hambat 14 mm atau kurang. Dikatakan agak resisten jika membentuk diameter zona hambat 15 mm – 18 mm. Dikatakan peka jika membentuk diameter zona hambat 19 mm atau lebih (Bonang dan Enggar,

1982). Berdasarkan hasil penelitian, bakteri *S. aureus*, *E. Coli* dan *S. thypii* dikatakan resisten terhadap tetrasiklin dikarenakan membentuk zona hambat masing-masing sebesar 14,27 mm, 9,27 mm dan 10,28 mm. Perlakuan terbaik dari uji cakram ekstrak *Sargassum* spp yang diekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat dan aseton dengan bakteri *S. aureus*, *E. Colli*, dan *S. typhii* memiliki zona hambat dengan rata-rata 11,27 mm, hal ini menjelaskan bahwa senyawa antibakteri dari ekstrak *Sargassum* spp bersifat resisten. Meskipun belum efektif digunakan pada bakteri *S. aureus*, *E. Colli*, dan *S. typhii*, namun dari penelitian ini mampu didapatkan informasi adanya aktivitas antibakteri dari senyawa yang diekstrak dari *Sargassum* spp.

4.2 Uji Fitokimia

Pengujian komponen bioaktif pada *Sargassum* spp menggunakan metode fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya komponen bioaktif dalam sampel *Sargassum* spp yang berpotensi sebagai antibakteri. Analisis fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid atau steroid. Adapun hasil pengujian kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak *Sargassum* spp dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Fitokimia Ekstrak Aseton dan Etil Asetat *Sargassum* spp

Uji Fitokimia	<i>Sargassum</i> spp
Alkaloid	+
Tanin	-
Saponin	+
Flavonoid	+
Terpenoid	-

Keterangan :

- : Negatif
- + : Positif lemah

Analisis fitokimia *Sargassum* spp dalam hal ini perlu dilakukan karena dengan pengujian fitokimia dapat diketahui senyawa bioaktif yang terdapat pada

tanaman tersebut. Senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman tersebut menunjukkan bahwa adanya potensi antibakteri didalamnya.

Hasil uji fitokimia pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pada ekstrak *Sargassum* spp mengandung 3 senyawa bioaktif dari 5 senyawa bioaktif yang diuji dengan metode fitokimia. Senyawa bioaktif tersebut antara lain senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid.

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 2 menunjukkan bahwa sampel segar *Sargassum* spp mengandung senyawa alkaloid. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya tanda positif lemah pada ekstrak yang diuji. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Bowo *et al.*, 2009).

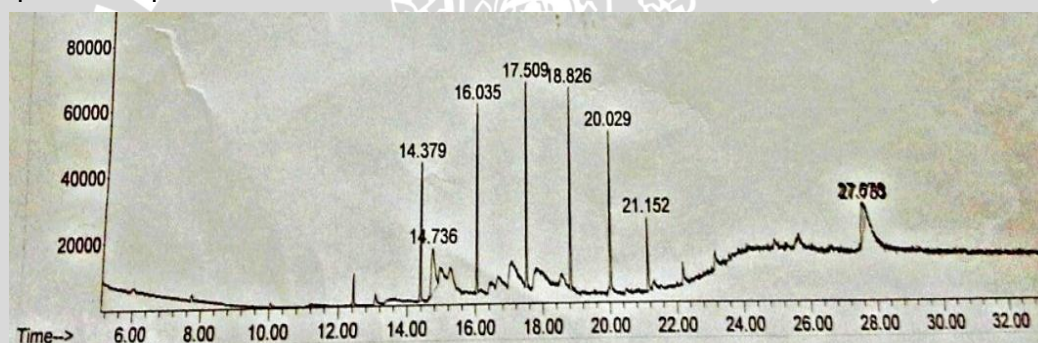
Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin (Harborne, 1987). Hal tersebut terjadi pada sampel *Sargassum* spp yang terbentuk busa ketika sampel tersebut ditambahkan aquades dan dididihkan selama 2-3 menit yang kemudian dikocok hingga terlihat busa yang stabil. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995).

Pada sampel *Sargassum* spp yang dilakukan uji fitokimia menunjukkan sampel tersebut mengandung senyawa flavonoid, karena terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol. Perubahan warna kuning tersebut karena senyawa flavonoid bereaksi dengan senyawa amoniak yang ditambahkan pada sampel. Seperti halnya menurut Harborne (1987), flavonoid berupa senyawa fenol, oleh karena itu warnanya berubah bila ditambahkan basa atau amoniak. Mekanisme

kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.*, 2009).

4.3 Identifikasi Senyawa Aktif

Identifikasi untuk menentukan profil senyawa antibakteri dalam ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp dilakukan dengan menggunakan uji GC. Adapun hasil dari GC adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu atau dua jenis senyawa. Senyawa yang teridentifikasi dari ekstrak *Sargassum* spp dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 13. Spektra Ekstrak Aseton dan Etil Asetat *Sargassum* spp

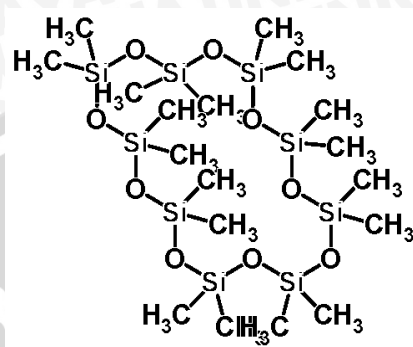
Berdasarkan hasil kromatografi tersebut ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp yang diduga mengandung macam-macam senyawa antibakteri berupa jenis senyawa alkana, alkena, alkanol dan asam karboksilat dapat dilihat pada Tabel dibawah ini.

Tabel 3. Hasil Analisis GC Ekstrak Aseton dan Etil Asetat *Sargassum* spp

No	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak
1	Cyclononasiloxane, octadecamethyl	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	667	1
2	Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	$C_{20}H_{40}O$	296	2
3	Eicosamethylcyclodecasiloxane	$C_{8}H_{24}O_4Si_4$	296	3
4	Silicone Oil	$C_6H_{18}OSi_2$	236	6

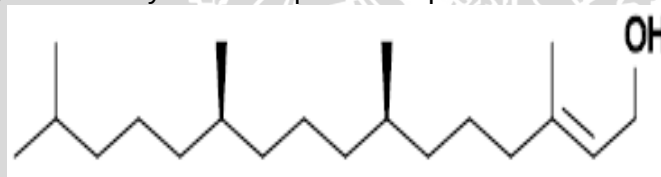
Dari hasil analisis senyawa GC yang terdapat pada tabel diatas menunjukkan bahwa ada 4 senyawa antibakteri yang terkandung dari ekstrak

Sargassum spp Senyawa yang terdapat pada peak 1 adalah *Cyclononasiloxane, octadecamethyl* yang mempunyai rumus molekul $C_{18}H_{54}O_9Si_9$ dan berat molekul 667. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



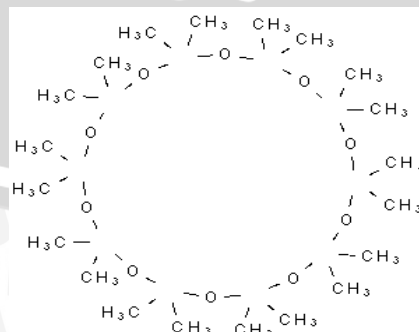
Gambar 14. *Cyclononasiloxane, octadecamethyl*

Senyawa yang terdapat pada peak 2 adalah *Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol* yang mempunyai rumus molekul $C_{20}H_{40}O$ dan berat molekul 296. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 15. *Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol*

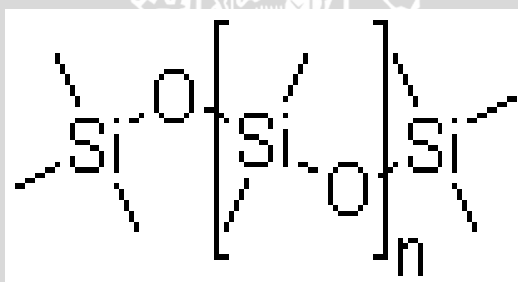
Senyawa yang terdapat pada peak 3 adalah *Eicosamethylcyclodecasiloxane* yang mempunyai rumus molekul $C_{8}H_{24}O_4Si_4$ dan berat molekul 296. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar 16. *Eicosamethylcyclodecasiloxane*

Menurut penelitian dari Chaloraborty (2007), bahwa kedua senyawa *Eicosene* dan *Hexadecene* 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 yang terdapat pada peak 6 adalah *Silicone Oil* yang mempunyai rumus molekul $C_6H_{18}OSi_2$ dan berat molekul 236. Adapun Rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



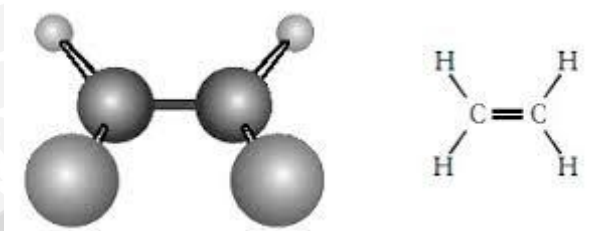
Gambar 17. Silicone Oil

Senyawa-senyawa golongan alkena, alkanol dan asam karboksilat diduga memiliki peran sebagai antibakteri. Alkena merupakan kelompok hidrokarbon yang terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum C_nH_{2n} . Senyawa alkena memiliki ikatan rangkap dalam struktur molekulnya yang memungkinkan untuk berikatan dengan molekul lain. Alkanol merupakan senyawa turunan alkana yang salah satu atom H nya diganti oleh gugus fungsi OH sehingga memiliki rumus umum $C_nH_{2n+2}O$. Senyawa alkanol memiliki gugus hidroksil yang dapat menjembatani ikatan hidrofobik dengan hidrofilik. Asam karboksilat merupakan golongan senyawa karbon yang mempunyai gugus fungsional $-COOH$ terikat langsung pada gugus alkil, sehingga memiliki rumus

umum R-COOH. Senyawa karboksilat memiliki gugus karboksil yang dapat berikatan dengan gugus amina protein (Kusjayaputri, 2013). Dari penjelasan diatas dapat ditentukan bahwa senyawa-senyawa pada ekstrak *Sargassum* spp merupakan senyawa alkena. 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.

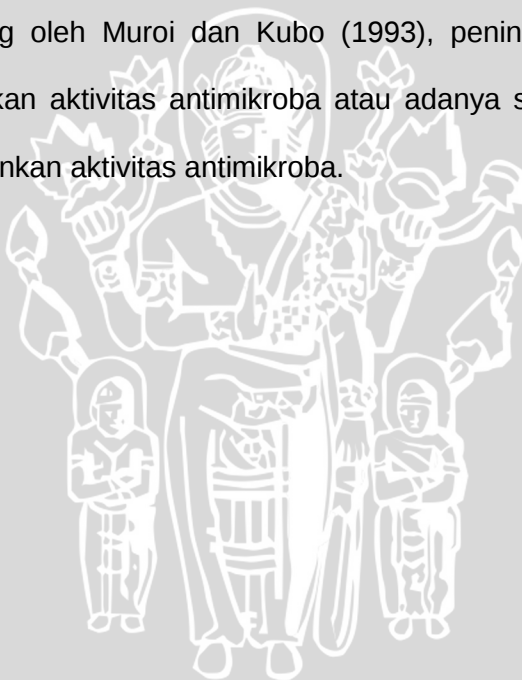
Senyawa-senyawa antibakteri diduga memiliki aksi sinergis di dalam penghambatan pertumbuhan bakteri. Senyawa alkanol dan senyawa asam karboksilat memiliki aksi yang khas di dalam penghambatan dimana alkanol bekerja melalui aksi mendenaturasikan protein, merusak membran sel, sarana dehidrasi sel serta 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, 1986).

. Senyawa alkena memiliki ikatan rangkap dalam struktur molekulnya yang memungkinkan untuk berikatan dengan molekul lain. Struktur molekul alkena dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. 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.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian tentang Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Sargassum* spp Dari Pelarut Aseton dan Etil Asetat Dengan Perbandingan 75:25 Terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *S. typhii* yaitu:

- Hasil dari ketiga konsentrasi yaitu 15.000, 10.000 dan 5000 ppm yang digunakan sebagai konsentrasi ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp yang menghasilkan daya antibakteri terbaik terdapat pada konsentrasi 15000 ppm. Sedangkan untuk kontrol tetrasiklin didapatkan hasil diameter zona hambat terbaik pada bakteri *S.aureus*.
- Hasil analisis dengan metode GC, terdapat 4 senyawa antibakteri yang terekstrak dari *Sargassum* spp antara lain Cyclononasiloxane, Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol, Eicosamethylcyclodecasiloxane dan *Silicone Oil*.

5.1 Saran

Disarankan pada penelitian selanjutnya agar digunakan ekstrak murni dari *Sargassum* spp dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan pemurnian ekstrak agar dihasilkan daya hambat yang lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, R.; H.Y. Teruna dan N. Balatif. 2013. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dari Daun Tanaman *Annona squamosa* L. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau.
- Andayani, Regina; Yovita L. Dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). Fakultas Farmasi. Universitas Andalas. Padang. Sumatera Barat.
- Andriyanti R. 2009. Ekstraksi senyawa aktif antioksidan dari lintah laut (*Discodoris* sp.) asal perairan kepulauan belitung [skripsi]. Bogor : Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Ardiansyah, 2005, Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan, (Online), (<http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2005-05-31-Daun-Beluntas-Sebagai-Bahan-Antibakteri-dan-Antioksidan.shtml>), Diakses 17 Juni 2014).
- Aslan, L. M. 2006. Budidaya Rumput Laut. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Astawan M dan Kasih AL. 2008. Khasiat warna-warni makanan. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Bachtiar S.Y. ; Wahyu T. Dan Nanik S. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum* spp) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli*. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Bonang, G dan Enggar S. K. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik. Jakarta: PT. Gramedia.
- Capuccino, J.G., Natalie., S .2001. Microbiology: A Laboratory Manual. Benjamin Cummings. San Fransisico.
- Dali, S. Natsir, H. Usman, H. Dan Ahmad, A. 2011. Bioaktivitas Antibakteri Fraksi Protein alga Merah *Gelidium amansii* Dari Perairan Cikoang Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Daluningrum IPW. 2009. Penapisan awal komponen bioaktif dari kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai senyawa antibakteri [skripsi]. Bogor : Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

- D'aoust, J. V. 2001. Salmonella. New York : A John Wiler & Sons, Inc., Publication. Hal 163-191.
- Departemen Kesehatan RI. 1997. Bakteri Pencemar Makanan Dan Penyakit Bawaan Makanan. Jakarta
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, *Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar [Skripsi].Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret.Surakarta.
- Fardiaz, 1989. Mikrobiologi Pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Google image. 2014. Struktur Etil Asetat <http://www.google.com>. Diakses pada tanggal 30 Maret 2014.
- Handayani, D. Maipa, D., Marlina, Meilan. 2007. Skrining Aktivitas Antibakteri Beberapa Biota Laut dari Perairan Pantai Painan, Sumatera Barat. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas Madang.
- Han LK, Kimura Y, Kawashima M, Takaku T, Taniyama T, Hayashi T, Zheng YN, Okuda H. 2001. Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. International Journal of Obesity. 25 : 1459–1464.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Ed ke-2. 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.
- Hayati EK. 2008. Potensi dan Peluang Tanaman Obat Sebagai Obat Pelangsing Alami. <http://elokkamilah-uinmalang.blogspot.com/2008/12/potensi-danpeluang-tanaman-obat>. [12 Maret 2010].
- Irawan, T. A. Bambang. 2010. Peningkatan Mutu Minyak Nilam dengan Ekstraksi dan Destilasi pada Berbagai Komposisi Pelarut. Magister Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Semarang.
- Jawetz, E., J.L, Melnick, and E. Adelberg. 1986. Medical Microbiology. Apleton and Lange. New York.
- Kadi. 2008. Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum Di Perairan Indonesia. www.rumputlaut.org. 19/09/2008.

- Khotimah, K., Darius, Sasmito, B. B. 2013. Uji Aktivitas Senyawa Aktif Alga Coklat (*Sargassum fillipendulla*) sebagai Antioksidan Pada Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). PS Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
- Kim JH, Hahm DH, Yang DC, Kim JH, Lee HJ, dan Shim I. 2005. Effect of Crude Saponin of Korean Red Ginseng on High-Fat Diet-Induced Obesity in the Rat. *Journal of Pharmacological Sciences*. 97 : 124–131.
- Madigan, M., Hoogewerf, G. E., Jung, D.O. 2003. Novel carotenoid glucoside esters from alkaliphilic heliobacteria. *Arch. Microbiol.* 179:95-100.
- Maulida, Dewi dan Naufal Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, n-Heksana, Aseton dan Etanol. Skripsi. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Moat, J. W., Albert, G. 2002. *Microbial Physiology*. The Fourth Edition.
- Pelczar, M.J dan E. C. S Chan. 1988. *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.
- Purwarni, M. V. ; Suyanti dan Muhadi A.W. 2008. Ekstraksi Konsentrat Neodimium Memakai Asam Di-2-Etil Heksil Fosfat. Seminar Nasional IV. SDM Teknologi Nuklir. Yogyakarta, 25-26 Agustus 2008. ISSN 1978-0176.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung.
- Rosaline, X. D., Shanmugavel, S., Kuppu, R. and Sundaram, J. 2012. Screening of Select Marine Algae from the Coastal Tamil Nadu, South India for Antibacterial activity. Departement of Zoology, University of Madras, Guindy Campus, Chennai 600-025, India.
- Ruiz C, Falcocchio S, Xoxi E, Villo L, Nicolosi G, Pastor FIJ, Diaz P, Saso L. 2005. Inhibition of *Candida rugosa* lipase by saponin, flavonoids and alkaloids. *J. Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63 : 539-560.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alami*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setiabudy, R. Dan V.H.S. Gan. 2005. *Pengantar Antimikroba dalam Farmakologi dan Terapi*. Edisi keempat. Unirversitas Indonesia, Jakarta.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. ITB. Bandung.
- 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.

Sulistiyowati, H. 2003. Struktur Komunitas Seaweed (Rumput Laut) di Pantai Pasir Putih Kabupaten Situbondo. Jurnal Ilmu Dasar 4 (1) : 58-61.

Susanti, Ni Made Fitri. 2012. Identifikasi Kandungan Cannabinoid Dalam Ekstrak Batang Ganja dengan Metode AI-TLC dan HPTLC Spectrophotodensitometry. Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences 2012; 2 (1): 17-20.

Tamat S.R; Wikanta T; Lina S. 2007. Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Ekstrak Rumput Laut Hijau Ulva Reticulata Forsskal. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol.5 No.1. Hal 31-36.

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, 2013. Etil Asetat. <http://www.wikipedia.org/etilasetat/wiki.htm>. Diakses pada tanggal 27 Juni 2014 pukul 20:00 WIB.

Xia D, Wu X, Yang Q, Gong J, Zhang Y. 2010. Anti-obesity and hypolipidemic effect of a functional formula containing *Prunus mume* in mice fed highfat diet. African Journal of Biotechnology. 9(16) : 2463-2467.

Xu BJ, Han LK, Zheng YN, Lee JH, Sung CK. 2005. In Vitro Inhibitory Effect of Triterpenoidal Saponins from *Platycodi Radix* on Pancreatic Lipase. Archives of Pharmacal Research. 28 (2) : 180-185.

Lampiran 1. Berat Ekstrak *Sargassum* spp dengan Pelarut Aseton dan Etil Asetat

<i>Sargassum</i>	W _p (g)	W _{c0} (g)	W _{c1} (g)
<i>Sargassum</i> A	50	23,24	24,93
<i>Sargassum</i> B	50	23,24	24,81
<i>Sargassum</i> C	50	23,24	24,72

Keterangan : W_p = berat sampel yang di ekstrak

W_{v0} = berat botol vial kosong

W_{v1} = berat botol vial isi

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{W_{v1} - W_{v0}}{W_p} \times 100\%$$

1. Ekstrak *Sargassum* A

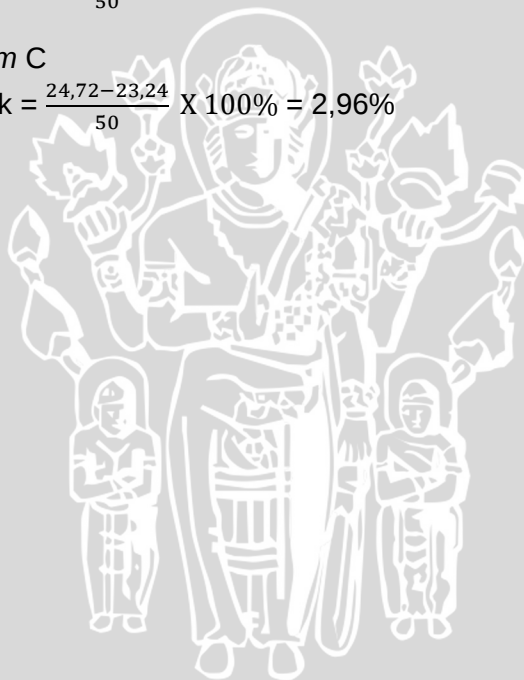
$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{24,93 - 23,24}{50} \times 100\% = 3,38\%$$

2. Ekstrak *Sargassum* B

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{24,81 - 23,24}{50} \times 100\% = 3,14\%$$

3. Ekstrak *Sargassum* C

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{24,72 - 23,24}{50} \times 100\% = 2,96\%$$



Lampiran 2. Rata-Rata Rendemen Ekstrak *Sargassum* spp dengan Pelarut Aseton dan Etil Asetat

Rendemen			Rerata	Standar deviasi
<i>Sargassum</i> A	<i>Sargassum</i> B	<i>Sargassum</i> C		
3,38	3,14	2,96	3,16	0,21



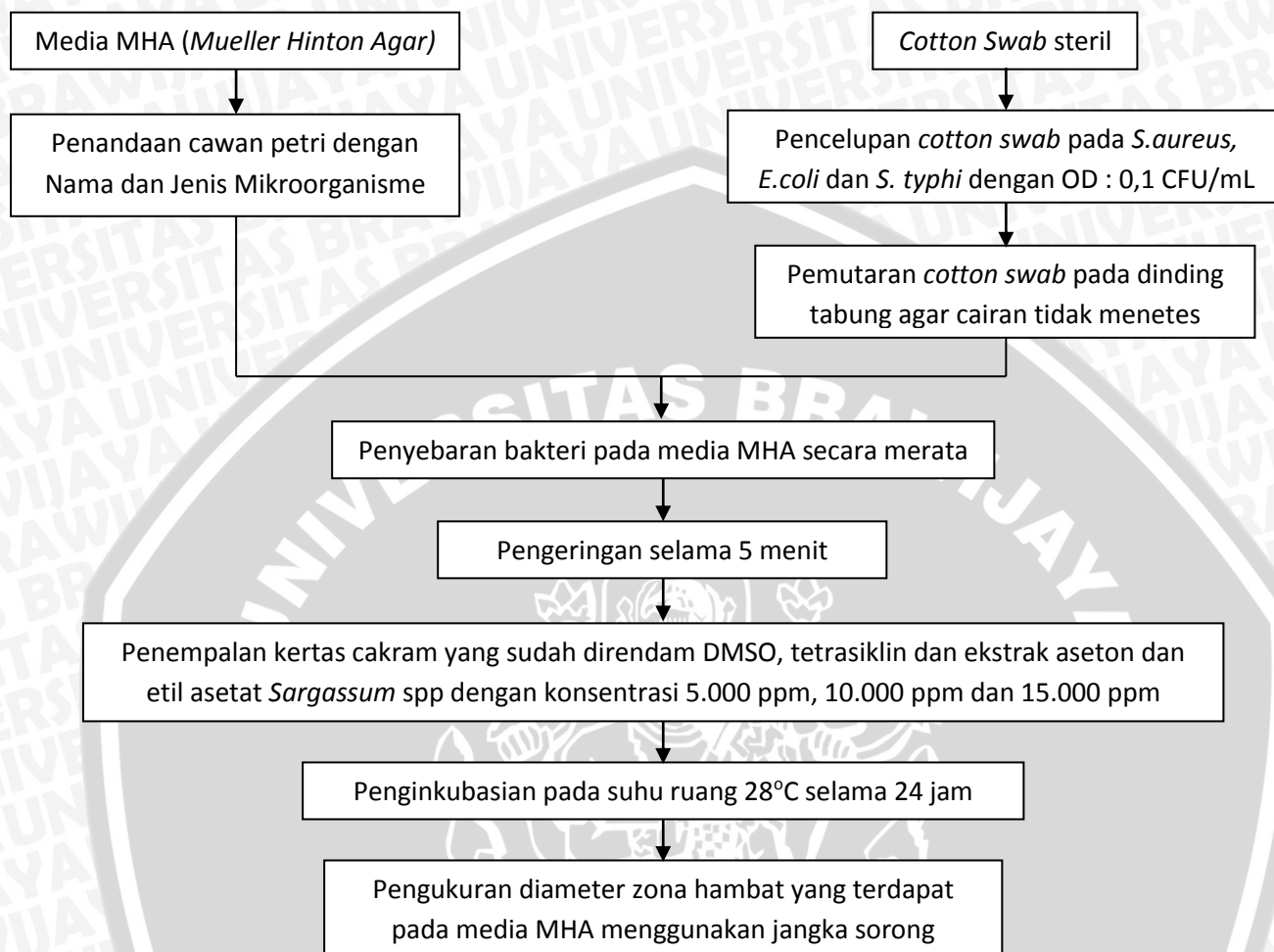
Lampiran 3. Pembuatan Media Muller Hilton Agar (MHA)

Komposisi	Jumlah (gr)
Casein hidrolisate	17,5
Starch	1,5
Agar	13
Infusion from meat	2,0

Sumber : Label media MHA**Cara Pembuatan :**

- Ditimbang 34 gram media MHA dan dimasukkan erlenmeyer
- Ditambahkan akuades sedikit demi sedikit sambil digoyang sampai 1 L
- Dimasukkan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 15 menit
- Erlenmeyer sesekali digoyang untuk membantu agar larutan menjadi homogen selama pemanasan dalam waterbath
- Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlenmeyer, media tersebut disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit
- Media yang sudah steril diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas media.
- Media yang sudah disterilisasi siap digunakan

Lampiran 4. Skema Uji Cakram Metode Kirby-Bauer



Lampiran 5. Pengenceran Bahan Uji

1. Pembuatan FeCl_2 1%

- Timbang FeCl_2 sebanyak 1 gram
- Kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL akuades

2. Pembuatan NaOH 2N

- Timbang NaOH sebanyak 8 gram
- Kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL akuades

Banyaknya NaOH yang dibutuhkan dapat dihitung dengan menggunakan

Rumus:

$$2N = \frac{x}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$\begin{aligned} 2N &= \frac{x}{40} \times \frac{1000}{100} \\ &= 8 \text{ gram} \end{aligned}$$

3. Pembuatan HCl 2N

- Timbang HCl sebanyak 1,16 gram
- Kemudian dilarutkan dalam 12 mL aquades

Banyaknya NaOH yang dibutuhkan dapat dihitung dengan menggunakan

Rumus:

$$2N = \frac{x}{Mr} \times \frac{1000}{12}$$

$$\begin{aligned} 2N &= \frac{x}{36} \times 83,3 \\ &= 1,16 \text{ gram} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan DMSO 4% dan Konsentrasi 15.000 ppm, 10.000 ppm dan 5.000 ppm

- DMSO 4% = 4 mL DMSO murni dilarutkan dalam akuades sampai 100 mL

$$= \frac{0,4}{100} \times 100\% = 4\%$$

- 1 ppm = 1 mg/L = 1 µg/ml

- Prosedur Pembuatan Stok 15000 ppm

$$\text{Perhitungan konsentrasi } 15000 \text{ ppm} = 15000 \text{ mg/L}$$

$$= 15000 \text{ mg}/1000\text{ml}$$

$$= 15 \text{ mg}/1\text{ml}$$

$$\text{Total stock ekstrak} = 15 \text{ mg dilarutkan dalam } 1 \text{ mL DMSO } 4\%$$

- Perhitungan konsentrasi 10.000 ppm

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$1 \times 10.000 = \gamma \times 15.000$$

$$\gamma = \frac{10.000}{15.000}$$

$$= 0,67 \text{ mL} + 0,33 \text{ mL DMSO } 4\%$$

- Perhitungan konsentrasi 5.000 ppm

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$1 \times 5.000 = \gamma \times 10.000$$

$$\gamma = \frac{5.000}{10.000}$$

$$= 0,5 \text{ mL} + 0,5 \text{ mL DMSO } 4\%$$

Lampiran 7. Senyawa Antibakteri Hasil GC Ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut Aseton dan Etil Asetat

No	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul
1	Cyclononasiloxane, octadecamethyl	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	667
2	Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	$C_{20}H_{40}O$	296
3	Eicosamethylcyclodecasiloxane	$C_{8}H_{24}O_4Si_4$	296
4	Silicone Oil	$C_6H_{18}OSi_2$	236



Lampiran 8. Data Zona Hambat *Sargassum* spp Terhadap Pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus* dan *S. typhi*

	E. coli			Salmonella Typhii			S. Aureus		
5000 (1)	8,7	10,5	10,45	10,0	10,4	10,0	8,65	10,0	10,5
5000 (2)	10,0	10,8	10,4	10,2	10,0	10,2	10,0	10,05	10,45
10.000 (1)	8,45	10,2	10,0	10,8	9,1	10,05	8,6	7,9	7,8
10.000 (2)	8,4	9,7	9,5	10,1	9,15	10,1	7,9	7,9	7,95
15000 (1)	8,05	10,2	10,3	10,15	9,2	9,05	7,8	10,2	9,65
15000 (2)	8,5	9,9	10,25	10,9	9,15	9,3	7,8	9,95	9,3
K+	9,25	9,35	14,4	9,45	12,5	14,3	9,1	9,0	14,1

	EC	ST	SA
15000 ppm	9,59	10,29	10,33
10.000 ppm	8,92	8,99	9,23
5.000 ppm	8,87	9,77	9,64
Kontrol (+)	9,27	10,28	14,27

Keterangan : Belum dikurangi diameter kertas cakram sebesar 6mm

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

1. *Sargassum* spp segar



2. Penjemuran *Sargassum* spp



3. *Sargassum* spp dihaluskan dengan mesin penggiling



4. *Sargassum* spp ditimbang 5 gram



5. *Sargassum* spp dimaserasi dengan pelarut Aseton dan Etil Asetat 75:25



6. *Sargassum* spp disaring dengan kertas saring whatman no 1



7. Pemisahan pelarut dengan
vacuum rotary evaporator



8. Diambil ekstrak aseton dan etil asetat *Sargassum* spp



9. Botol kosong ditimbang sebagai
berat awal



10. Ekstrak aseton dan etil asetat
ditimbang sebagai berat akhir



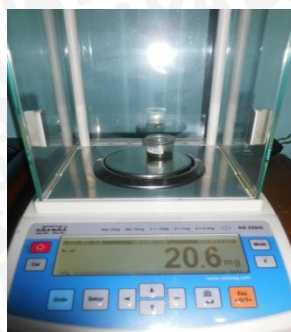
11. Ekstrak Aseton dan Etil Asetat
Sargassum spp



12. Ekstrak di panaskan pada
suhu 70 °C



13. Ekstrak ditimbang sebanyak 20 mg



14. Ekstrak yang telah dicampur tetrasiklin



15. Pengenceran dari 15000 hingga 10000 dan 5000



16. Pengenceran dimasukkan dalam botol tube



17. Uji Fitokimia



18. Uji GC (Gas Cromatografi)



19. Penyetrikan media pada cawan petri



20. Penanaman *Blank disc* pada media



21. Cawan petri dibungkus kertas Koran dan diinkubasi selama 24 jam

Sargassum spp



22. Hasil zona hambat menggunakan ekstrak aseton dan etil asetat

Sargassum spp

