

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum* spp DENGAN
PELARUT HEKSAN TERHADAP *Staphylococcus aureus*,
Salmonella typhii dan *Escherichia coli***

LAPORAN SKRIPSI

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

Oleh :

UMI SULIFAH

NIM. 105080300111016



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum* spp DENGAN
PELARUT HEKSAN TERHADAP *Staphylococcus aureus*,
Salmonella typhii dan *Escherichia coli***

LAPORAN 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 :

UMI SULIFAH

NIM. 105080300111016



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2014

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum* spp DENGAN PELARUT

HEKSAN TERHADAP *Staphylococcus aureus*,

Salmonella typhii dan *Escherichia coli*

OLEH :

UMI SULIFAH

NIM. 105080300111016

Telah dipertahankan didepan penguji

Pada tanggal 06 Agustus 2014

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Yahya, MP)

NIP. 19630706 199003 1 003

Tanggal:

(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal:

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Bambang Budi S., MS)

NIP. 19570119 198601 1 001

Tanggal:

(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

Umi Sulifah



UCAPAN TERIMA KASIH

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

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

1. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dengan penuh kesabaran sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Ir. Yahya, MP dan Bapak Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS selaku dosen penguji I dan II yang telah memberikan masukan sampai terselesainya laporan ini
4. Bapak, Ibu, mas Mujiyanto, adik-adikku Taufiq Hidayat dan Ervina Maulidya serta keluarga besar yang telah memberikan semangat dan doa yang tak ternilai sehingga dapat menyelesaikan laporan skripsi ini.
5. Tim SAR-gassum Vio, Karina, Arinda, Mas Nicky dan Martin dan keluarga besar THP 2010 tercinta yang menjadi motivator dalam penyelesaian laporan skripsi ini.

6. Sahabat-sahabatku Ega, Faiz, Nita, mbak Alin, Lutfy, Imel, mbak Indah, mb Cindy, Nelli, Mutia, Haris, Amik, Lyu, Vedo, mas Bayu, Hafid, dan teman-teman semuanya yang tidak bisa disebutin satu per satu yang telah membantu dengan sepenuh hati, memberi semangat, berbagi informasi, dan berjuang bersama dalam suka dan duka
7. Mas Aditya Krestyatama terima kasih atas segala do'a dan semangat yang terus diberikan selama ini.
8. Ibu Titin, Pak Wahyudi dan Pak Slamet selaku Laboran laboratorium yang saya gunakan untuk penelitian, terima kasih atas bantuan dan kerja samanya dalam proses penelitian dan pembuatan laporan skripsi ini.

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

Malang, Agustus 2014

Penulis

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah atas kehadiran Allah SWT dan sholawat serta salam senantiasa kita sanjungkan kepada junjungan kita nabi Muhammad SAW atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi dengan judul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii* dan *Escherichia coli*”. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Sehubungan dengan selesainya Laporan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar- besarnya kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa mengabdikan do'a saya serta selalu ada dimanapun berada.
2. Bapak dan Ibu tercinta atas segala doa, kasih sayang, pengertian dan pengorbanan tak ternilai yang telah kalian berikan.
3. Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP dan Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku dosen pembimbing I dan II yang telah membimbing dan memberi banyak masukan berharga selama penulisan laporan skripsi ini.
4. Pihak-pihak yang memberikan doa dan dukungannya, terima kasih banyak.

Penulis berharap semoga laporan Skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan pembaca pada umumnya.

Malang, Agustus 2014

Penulis

RINGKASAN

UMI SULIFAH (105080300111016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Sargassum* spp Dengan Pelarut Heksan Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhii* dan *Escherichia coli* (Di bawah bimbingan **Dr. Ir. M. Firdaus, MP** dan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS**).

Indonesia merupakan negara penghasil rumput laut terbesar di dunia namun potensi tersebut masih belum dikembangkan. Salah satu potensinya yaitu rumput laut coklat. *Sargassum* spp belum banyak dimanfaatkan bahkan seringkali merupakan sampah yang berserakan dan mengganggu bagi pelayaran kapal nelayan meskipun dapat dimanfaatkan sebagai sumber alginat karena kandungan bioaktifnya yang cukup tinggi. *Sargassum* spp memiliki potensi dalam penyembuhan penyakit kantung kemih, gondok, kolesterol, digunakan sebagai kosmetik, sumber alginat, antibakteri dan antioksidan. Ekstrak *Sargassum* menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan yang maksimal terhadap beberapa jenis bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhii*, *Escherichia coli*. Senyawa antibakteri didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Pelarut heksan banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa non polar. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak heksan *Sargassum* spp terkuat membentuk zona bening terhadap pertumbuhan *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*, mendapatkan identitas senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak heksan *Sargassum* spp yang menghambat *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Juni 2014, di Laboratorium Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mekatronika Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Forensik POLDA Jawa Timur Surabaya.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif merupakan metode penyelidikan yang menuturkan dan mengklasifikasikan data yang diperoleh dari berbagai teknik pengambilan data. Tujuannya adalah untuk memaparkan secara sistematis, faktual, dan akurat mengenai fakta serta sifat dari suatu populasi tertentu.

Hasil analisis uji fitokimia dapat diketahui bahwa ekstrak heksan *Sargassum* spp mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Sedangkan hasil analisis uji GC-MS dapat diketahui bahwa senyawa yang diduga berfungsi sebagai antibakteri antara lain *methoxyacetic acid*, *octadecane*, *icosane*, *pentadecane* dan *docosane*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak heksan *Sargassum* spp dapat digunakan sebagai anti *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang cukup baik pada konsentrasi 15.000 ppm.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|-----------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| PERNYATAAN ORISINILITAS | iii |
| UCAPAN TERIMA KASIH | iv |
| KATA PENGANTAR | vi |
| RINGKASAN | vii |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR GAMBAR | x |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xii |
| | |
| 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Kegunaan Penelitian | 4 |
| 1.5 Waktu dan Tempat | 4 |
| | |
| 2. TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 <i>Sargassum</i> sp | 5 |
| 2.2 Ekstraksi | 6 |
| 2.3 Senyawa Bioaktif | 8 |
| 2.3.1 Alkaloid | 10 |
| 2.3.2 Flavonoid | 11 |
| 2.3.3 Terpenoid | 12 |
| 2.3.4 Tanin | 13 |
| 2.3.5 Saponin | 14 |
| 2.4 Antibakteri | 15 |
| 2.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> | 17 |
| 2.4.2 <i>Salmonella typhi</i> | 19 |
| 2.4.3 <i>Escherichia coli</i> | 21 |
| | |
| 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN | 23 |
| 3.1 Bahan dan Alat Penelitian | 23 |
| 3.1.1 Bahan Penelitian | 23 |
| 3.1.2 Alat Penelitian | 23 |
| 3.2 Metode Penelitian | 24 |
| 3.3 Prosedur Penelitian | 24 |
| 3.3.1 Persiapan Bahan | 27 |
| 3.3.2 Ekstraksi | 28 |
| 3.3.3 Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak <i>Sargassum</i> spp. | 29 |
| 3.4 Uji Fitokimia | 30 |

3.5 Identifikasi Senyawa Ekstrak *Sargassum* spp dengan Pelarut Heksan pada Uji GC-MS 31

4. HASIL DAN PEMBAHASAN 34

4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji cakram)..... 34

4.2 Uji Fitokimia..... 37

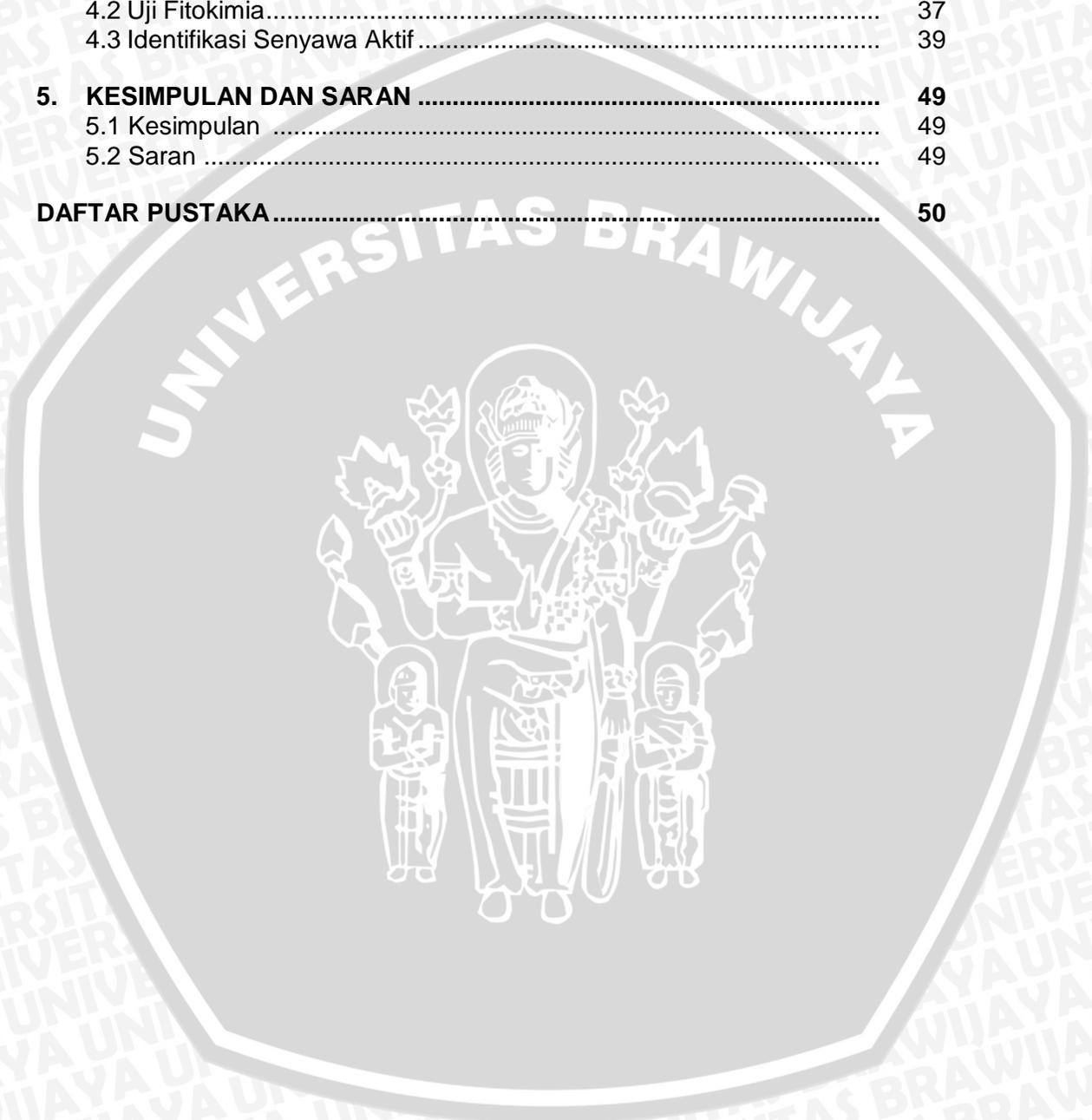
4.3 Identifikasi Senyawa Aktif 39

5. KESIMPULAN DAN SARAN 49

5.1 Kesimpulan 49

5.2 Saran 49

DAFTAR PUSTAKA..... 50

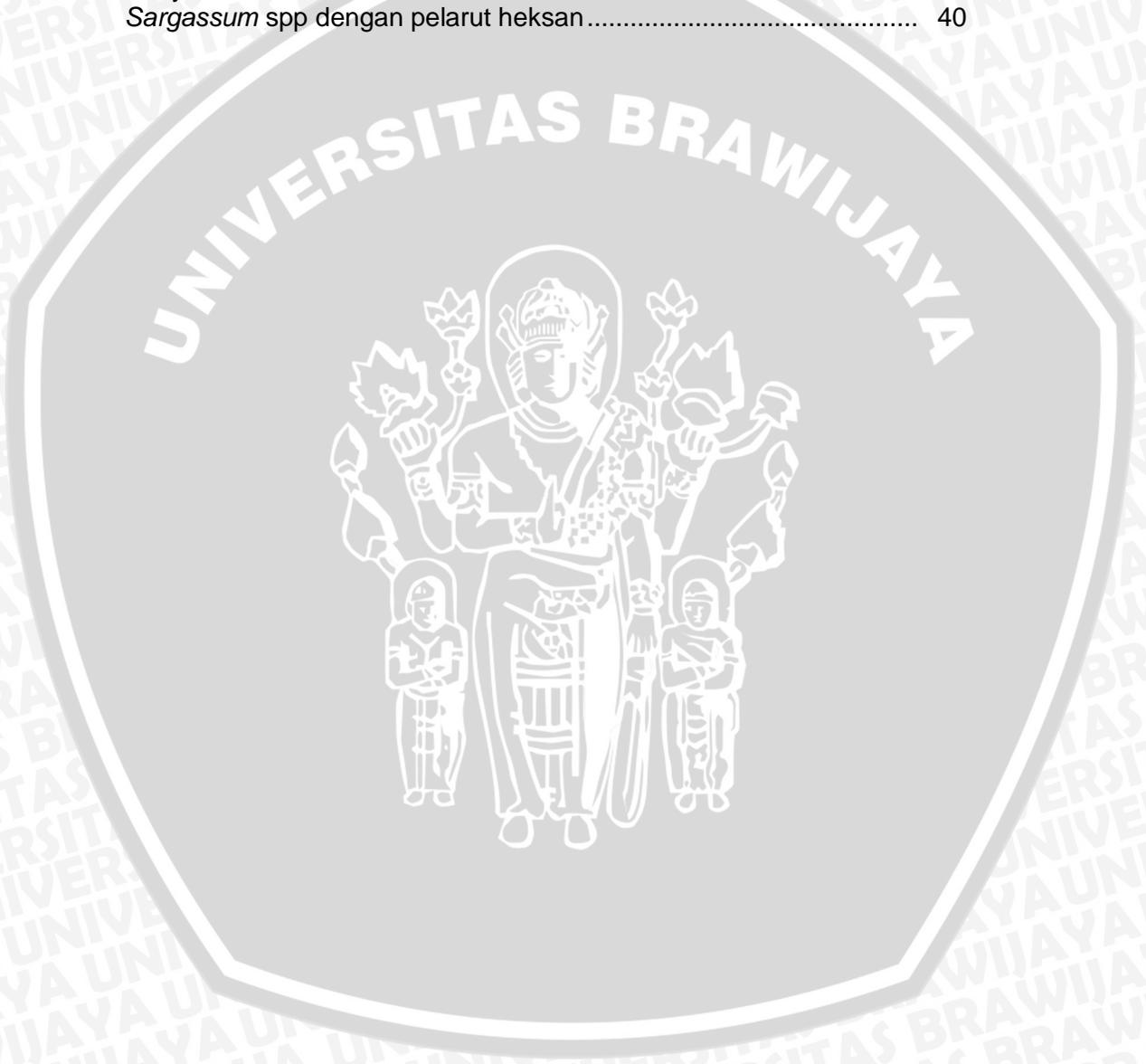


DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. <i>Sargassum</i> sp | 5 |
| 2. Struktur Alkaloid | 10 |
| 3. Struktur Flavonoid | 11 |
| 4. Struktur Terpenoid | 13 |
| 5. Struktur Tanin | 13 |
| 6. Struktur Saponin | 15 |
| 7. <i>Staphylococcus aureus</i> | 18 |
| 8. <i>Salmonella typhi</i> | 20 |
| 9. <i>Escherichia coli</i> | 22 |
| 10. Skema kerja daya hambat ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan terhadap penghambatan bakteri <i>S. aureus</i> , <i>S. typhi</i> dan <i>E. coli</i> | 25 |
| 11. Zona bening <i>S.aureus</i> , <i>S. typhi</i> dan <i>E. coli</i> dari berbagai konsentrasi ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan | 35 |
| 12. Diagram Zona bening <i>S.aureus</i> , <i>S. typhi</i> dan <i>E. coli</i> dari berbagai konsentrasi ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan | 35 |
| 13. Spektra Ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan | 39 |
| 14. <i>Tridecane 1-iodo</i> | 40 |
| 15. <i>Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)</i> | 41 |
| 16. <i>Tritetracontane methoxyacetic acid</i> | 41 |
| 17. <i>Octadecane n-octadecane</i> | 42 |
| 18. <i>Tetracosane n-tetracosane</i> | 42 |
| 19. <i>Eicosane n-eicosane</i> | 43 |
| 20. <i>Tetratetracontane</i> | 44 |
| 21. <i>Pentadecane</i> | 44 |
| 22. <i>Hexacosane</i> | 44 |
| 23. <i>Heneicosane</i> | 45 |
| 24. <i>Tricosane</i> | 45 |
| 25. <i>Hentriacontane</i> | 46 |
| 26. <i>Arachidonoc acid</i> | 47 |
| 27. <i>Pentatriacontane</i> | 47 |
| 28. <i>Docosane</i> | 48 |
| 29. <i>Eicosane n-eicosane</i> | 48 |

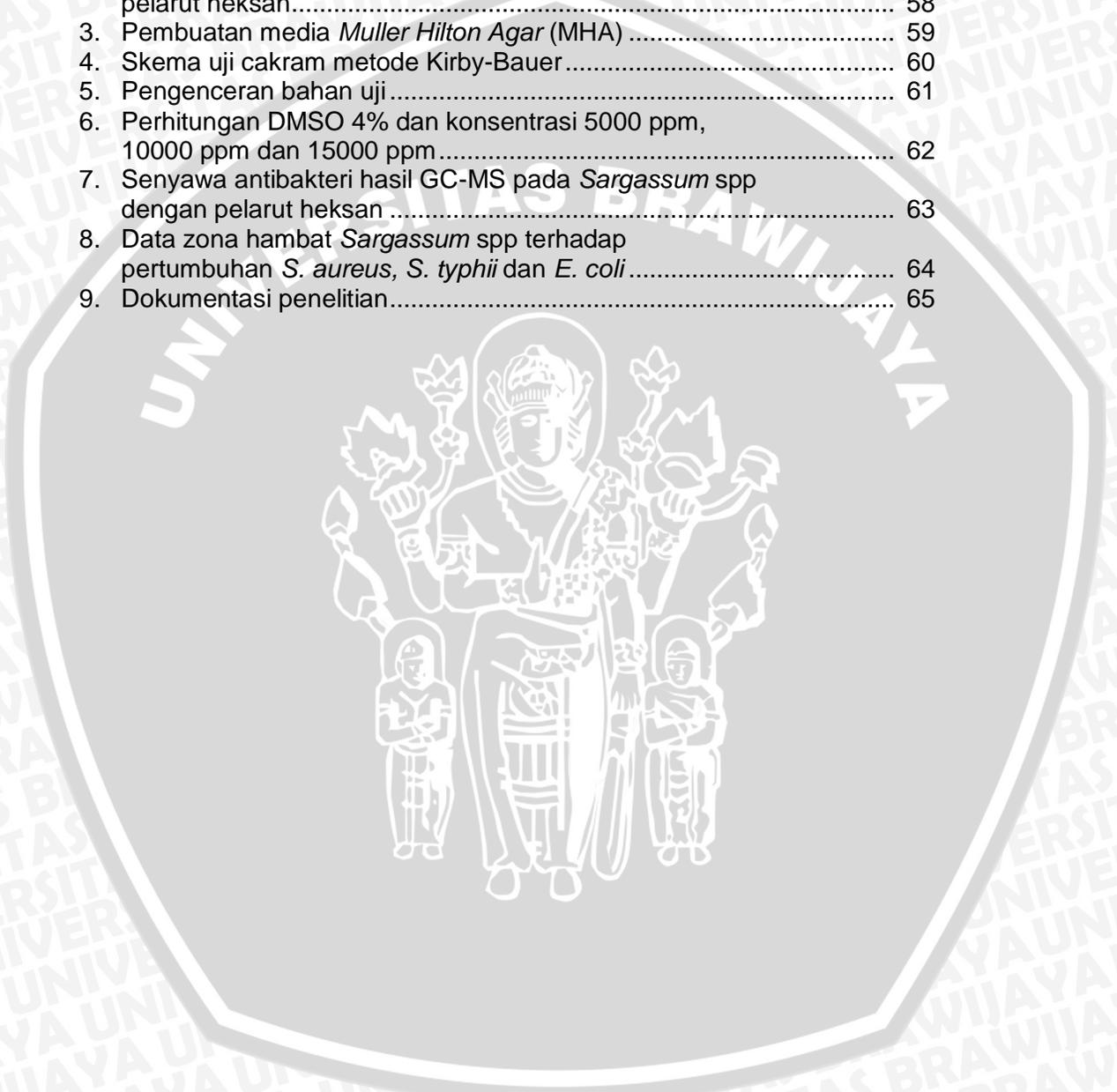
DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Daya Hambat Antibakteri..... | 16 |
| 2. Kandungan Fitokimia Ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan..... | 37 |
| 3. Senyawa Antibakteri Hasil Analisis GC-MS Ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan..... | 40 |



DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Berat ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan | 58 |
| 2. Rata-rata rendemen ekstrak <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan..... | 58 |
| 3. Pembuatan media <i>Muller Hilton Agar</i> (MHA) | 59 |
| 4. Skema uji cakram metode Kirby-Bauer | 60 |
| 5. Pengenceran bahan uji | 61 |
| 6. Perhitungan DMSO 4% dan konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm dan 15000 ppm..... | 62 |
| 7. Senyawa antibakteri hasil GC-MS pada <i>Sargassum</i> spp dengan pelarut heksan | 63 |
| 8. Data zona hambat <i>Sargassum</i> spp terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> , <i>S. typhii</i> dan <i>E. coli</i> | 64 |
| 9. Dokumentasi penelitian..... | 65 |



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia mempunyai suatu peluang yang sangat besar dalam pemanfaatan hasil-hasil dari sektor kelautan, terutama dalam pemanfaatan rumput laut yang berhubungan dengan bidang kesehatan dan obat-obatan atau farmasi. Menurut Poernomo (2010), Indonesia merupakan negara penghasil rumput laut terbesar di dunia namun potensi tersebut masih belum dikembangkan. Salah satu potensinya yaitu rumput laut cokelat.

Rumput laut cokelat *Sargassum* spp tumbuh menempati hampir disepanjang pantai pulau-pulau di Indonesia. Pertumbuhan tanaman tersebut dapat membentuk padang rumput laut cokelat yang cukup luas terutama pada pantai yang dasarnya lempengan karang mati seperti yang dijumpai di perairan pantai selatan Pulau Jawa. Rumput laut tersebut belum banyak dimanfaatkan bahkan seringkali merupakan sampah yang berserakan dan pengganggu bagi pelayaran kapal nelayan meskipun dapat dimanfaatkan sebagai sumber alginat karena kandungan bioaktifnya yang cukup tinggi (Yulianto, 2007).

Sargassum spp mengandung alginat, vitamin C, vitamin E (α -tokoferol), mineral, karotenoid, klorofil, florotanin, polisakarida sulfat, asam lemak, dan asam amino. Tumbuhan ini memiliki potensi dalam penyembuhan penyakit kantung kemih, gondok, kolesterol, digunakan sebagai kosmetik, sumber alginat, antibakteri dan antioksidan (Matanjon, 2008).

Menurut Sastry dan Rao (1994), ekstrak *Sargassum* menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan yang maksimal terhadap beberapa jenis bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, dan *Bacillus cereus*. Arifuddin *et al.*, (2001), melaporkan bahwa fraksi protein 40-60 % dari alga coklat *Sargassum*

echinocarpum dan *Turbinaria* efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat > 14 mm. Mekanisme kerja senyawa fenol dalam membunuh sel bakteri yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri (Purwanti, 2007).

Senyawa antibakteri didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Berdasarkan aktivitasnya, senyawa antibakteri dapat dibedakan atas senyawa yang bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) seperti pinisilin, basitrasin, neomisin dan senyawa yang bersifat bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri) seperti tetrasiklin dan kloramfenikol (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Harborne (2006), 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. Heksan merupakan pelarut organik bersifat non polar. 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 dengan pelarut heksan.

Pelarut heksan banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa non polar (Cannell, 1998). Heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat. Oleh karena itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan juga tergantung jenis pelarutnya. Proses ekstraksi dengan pelarut heksan menghasilkan senyawa yang agak kental berwarna kuning cerah dan berbau pelarut (Munawaroh dan Handayani, 2010)

Walaupun akhir-akhir ini penelitian tentang antibakteri dari bahan alami terhadap bakteri patogen telah dilakukan, namun masih sangat sedikit informasi yang menyebutkan penggunaan *Sargassum* spp sebagai antibakteri alami terhadap *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* menggunakan pelarut heksan. Oleh karena itu dibutuhkan kajian yang lebih dalam mengenai antibakteri dari bahan alami, salah satunya dengan *Sargassum* spp. *Sargassum* spp menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*, sedangkan untuk mendapatkan antibakteri yang menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* dibutuhkan konsentrasi terbaik dalam ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan. Penelitian ini bertujuan untuk pemanfaatan alga cokelat jenis *Sargassum* spp sebagai antibakteri terhadap *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* dengan konsentrasi ekstrak terbaik.

1.2 Rumusan Masalah

Pemanfaatan *Sargassum* spp masih memerlukan kajian yang meliputi:

- Pada konsentrasi berapa ekstrak *Sargassum* spp dapat menghasilkan zona bening terluas terhadap *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*?
- Identitas senyawa aktif apa saja yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan untuk menghambat *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

- Mendapatkan konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan untuk membentuk zona bening terluas terhadap *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*
- Mendapatkan identitas senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan untuk menghambat *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

- Memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga, dan institusi lain mengenai rumput laut cokelat spesies (*Sargassum* spp) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.
- Masyarakat dapat memanfaatkan rumput laut cokelat khususnya *Sargassum* spp sebagai alternatif antibakteri alami.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Juni 2014 di Laboratorium Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mekatronika Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Forensik POLDA Jawa Timur Surabaya.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum* sp

Sargassum sp adalah alga cokelat yang memiliki thallus, bentuk daun melebar, agak lonjong. *Sargassum* sp atau alga cokelat 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 (Kadi, 2008). *Sargassum* merupakan bagian dari kelompok rumput laut cokelat (*Phaeophyceae*) dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae*. Klasifikasi *Sargassum* adalah sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 2005).

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

Sargassum terdiri dari kurang lebih 400 spesies di dunia. Spesies-spesies *Sargassum* sp yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu : *S. duplicatum*, *S. hystrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare*, dan *S. polyceratium* (Atmadja *et al.*, 2004). *Sargassum* sp dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Sargassum* sp

Ciri-ciri umum dari *Sargassum* ini adalah bentuk thallus umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, oval, atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter, ukuran panjang umumnya mencapai 3-7 meter, warna thallus umumnya cokelat (Aslan, 1991). *Sargassum* biasanya dicirikan oleh 3 sifat yaitu adanya pigmen cokelat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya flagel (Tjitrosoepomo, 2005).

Komposisi kimia dan pigmen yang terdapat pada rumput laut cokelat merupakan hasil dari foto sintesis yang jumlahnya sangat bervariasi, tergantung pada jenis, masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuh. Senyawa kimia terbanyak yang terdapat pada rumput laut cokelat adalah alginat, dalam jumlah sedikit terdapat pula laminaran, fukoidan, selulosa, manitol, dan senyawa bioaktif lainnya (Yunizal, 2004).

Sargassum sp telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil, kertas dan lain sebagainya. Hasil ekstraksi *Sargassum* sp berupa alginat banyak digunakan industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pastel isi, dan kue. *Sargassum* sp juga telah dimanfaatkan dibidang farmasi dan ternak (Tjitrosoepomo, 2005).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi *Sargassum* spp dilakukan dengan menggunakan pelarut heksan. Heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar. Pelarut heksan sering digunakan sebagai ekstraksi, salah satunya maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel kering sebanyak 50 g. Sampel tersebut kemudian dimasukkan

dalam botol plastik dan ditambahkan pelarut sebanyak 150 mL (1:3) (b/v). Botol plastik berisi sampel dan larutan kemudian dimaserasi selama 1x24 jam. Sampel disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 1 sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi yaitu ukuran bahan, waktu kontak antara bahan dengan pelarut dan suhu ekstraksi. Faktor lain yang menentukan hasil ekstraksi yaitu perbandingan antara sampel terhadap cairan pengestraksi (jumlah bahan pengestraksi) dan jangka waktu di mana sampel kontak dengan cairan pengestraksi (waktu ekstraksi).

Ekstraksi diartikan sebagai proses pemisahan zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Berdasarkan bentuk campurannya yang diekstrak, ekstraksi dibedakan menjadi dua macam yaitu ekstraksi padat dan cair. Ekstraksi padat yaitu campuran yang diekstrak berbentuk padat sedangkan ekstraksi cair yaitu campuran yang diekstrak berbentuk cair. Ekstraksi bentuk padat cair paling sering digunakan untuk mengisolasi zat yang terkandung dalam bahan alami. Sifat-sifat seperti kepolaran dan kelarutan bahan alami yang diisolasi berperan penting terhadap sempurnanya proses ekstraksi (Vogel, 1987).

Proses ekstraksi yang digunakan adalah proses maserasi dimana prinsip metode ini dilakukan dengan penggunaan ekstrak (sampel) yang direndam dengan menggunakan pelarut yang bersifat polar, semi polar dan non polar kemudian disaring selama dua hari pada suhu kamar. Dimana prinsip perendamannya yaitu pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan yang berdekatan terdesak keluar. Peristiwa tersebut akan berulang sampai terjadi keseimbangan

konsentrasi antara larutan yang diluar dengan larutan yang ada di dalam sel (Efendi, 1986).

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 ini akan larut dalam pelarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak 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, 2006).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel, 1989). Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan yang dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali (Sa'ad, 2009).

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).

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).

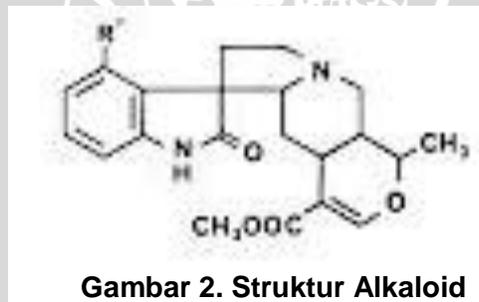
Sargassum spp merupakan alga multiseluler yang memiliki senyawa-senyawa hasil metabolisme sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut kemungkinan merupakan senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam dunia pengobatan misalnya sebagai antikanker, antioksidan, dan antibakteri. Menurut Rohmah (2011), *Sargassum* termasuk jenis alga coklat yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif sebagai metabolit sekundernya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan telah banyak diketahui manfaatnya antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, antitumor dan menghambat aktivitas enzim.

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 antibakteri dan antikanker. 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). Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui

senyawa bioaktif apa saja yang terkandung pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan. Uji fitokimia yang dilakukan pada ekstrak *Sargassum* spp yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin.

2.3.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa bioaktif yang terdapat pada tumbuhan. Alkaloid mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satu atau 2 atom nitrogen. Alkaloid sering beracun bagi manusia dan mempunyai efek fisiologis yang menonjol, sehingga sering digunakan untuk pengobatan (Harborne, 1987). Alkaloid dibentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran dan terbagi menjadi 3 bagian, yaitu elemen yang mengandung N terlibat pada pembentukan alkaloid, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas elemen-elemen pada alkaloid (Sirait, 2007). Struktur alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Alkaloid

Sumber: Google image^a (2014)

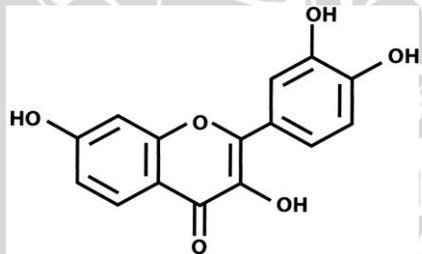
Fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum diketahui secara pasti. Namun alkaloid berfungsi sebagai pengatur tumbuh atau penghalau dan penarik serangga (Harborne, 1987). Struktur alkaloid memiliki kemampuan menghambat mikroba dan mekanismenya diduga karena dapat menyebabkan kerusakan DNA (Cowan, 1999). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanismenya adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri,

sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1991).

Senyawa alkaloid dilaporkan mempunyai aktifitas sebagai anti bakteri sedangkan senyawa tanin biasanya berfungsi untuk melapisi lapisan mukosa pada organ supaya terlindung dari infeksi bakteri. Senyawa saponin dilaporkan dapat meningkatkan permeabilitas dinding usus, memperbaiki penyerapan nutrisi dan juga menghambat aktivitas enzim urease (Erika, 2000).

2.3.2 Flavonoid

Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino. Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak (Bhat *et al.*, 2009). Struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Flavonoid

Sumber: Google image^b (2014)

Flavonoid merupakan sekelompok senyawa yang memiliki struktur dasar flavon atau flavan. Salah satu turunan flavonoid yaitu katekin, ditemukan pada apel, anggur, pear dan teh. Secara invitro mampu menghambat *Vibrio cholera*, *Streptococcus* dan *Shigella*. Sifat antibakteri flavonoid disebabkan karena kemampuannya membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri dan protein

ekstraseluler (Cowan, 1999). Flavonoid memiliki rumus kimia $C_{15}H_{10}O_2$ dengan berat molekul 222,24 g/mol (Metacyc, 2011).

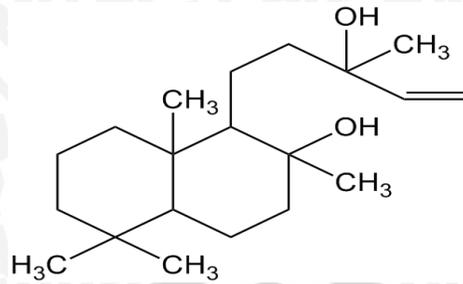
Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Flavonoid merupakan senyawa fenol sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwidjoseputro, 1994).

Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang nonpolar pada *S. aureus* (gram positif) sehingga menyebabkan aktivitas penghambat anisolat flavonoid terhadap *S. aureus* (gram positif) lebih besar dari pada *E. coli* (gram negatif) (Dewi, 2010).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai antibakteri yang ada pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan system enzim bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Volk dan Wheller, 1993).

2.3.3 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa yang dibangun oleh dua atau lebih unit C_5 yang tersusun secara teratur dari "kepala-ekor". Terpenoid dikelompokkan berdasarkan perbedaan jumlah atom C yang sebagian besar kelipatan lima (Achmad, 1986). Terpena dan terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang, virus dan protozoa. Terpenoid memiliki berat molekul sebesar 464,6 g/mol (Hill, 1993). Struktur terpenoid dapat dilihat pada Gambar 4.



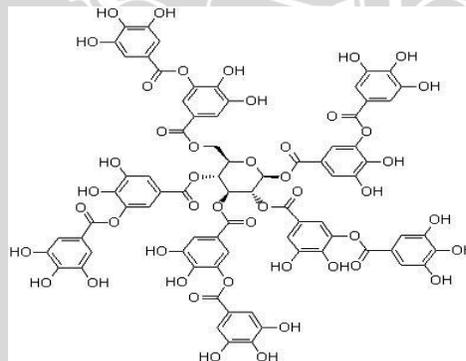
Gambar 4. Struktur Terpenoid

Sumber: Google image^c (2014)

Terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, kapang, virus dan protozoa. Mekanisme penghambatannya diduga melalui perusakan lipibilayer membran sel akibat gugus hidrofobik yang dimilikinya (Cowan, 1999).

2.3.4 Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Horvart, 1981). Struktur tanin dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Tanin

Sumber: Google image^d (2014)

Tanin memiliki aktivitas antibakteri. Mekanismenya yaitu toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan

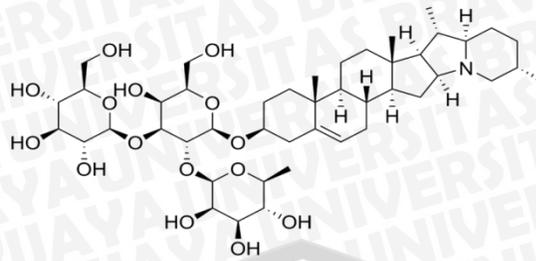
pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004). Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mengpresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik (Masduki, 1996). Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik.

Menurut Cowan (1999), tanin dapat membentuk kompleks dengan protein transmembran, enzim-enzim pada permukaan membran dan protein pili (adhesin), melalui ikatan hidrogen sehingga dapat mengganggu kehidupan bakteri. Ikatan hidrogen antara lain tanin dan protein terjadi melalui interaksi antara gugus hidroksil pada tanin dengan gugus karbonil pada protein.

2.3.5 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne, 1987).

Struktur saponin tertera pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur Saponin

Sumber: Google image^e (2014)

Saponin diklasifikasikan menjadi dua yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C_{27}) dengan molekul karbohidrat. Saponin steroid dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek anti jamur. Pada binatang menunjukkan penghambatan aktifitas otot polos. Saponin steroid diekskresikan setelah konjugasi dengan asam glukoronida dan digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis dari obat kortikosteroid (Hartono, 2009).

Saponin pada akar tanaman dapat digunakan sebagai obat generik yang dapat mengobati penyakit diabetes. Fenol termasuk flavonoid mempunyai fungsi sebagai anti oksidan yang berfungsi sebagai pereduksi radikal bebas, selain itu juga mempunyai peranan penting dalam menghambat antimikroba atau sebagai antibiotik (Mi-Jeong dan Ji Wong, 2005).

2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. 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 aktifitasnya dapat meningkat dari bakteristatik menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 1995). Kategori daya hambat antibakteri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Daya Hambat Antibakteri

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

Sumber: Davis and Stout (1971).

Kategori zona hambat antibakteri dapat dibedakan menjadi 4 antara lain lemah, sedang, kuat dan sangat kuat. Daya hambat antibakteri ≥ 20 mm adalah sangat kuat, sedangkan ≤ 5 mm berarti lemah.

Mekanisme senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dibagi menjadi beberapa cara, yaitu (1) mengubah permeabilitas membran sehingga dengan rusaknya membran akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, (2) menyebabkan terjadinya denaturasi protein, (3) menghambat kerja enzim di dalam sel sehingga mengakibatkan terganggunya metabolisme/matinya sel (4) merusak dinding sel mikroorganisme sehingga menyebabkan terjadinya lisis (Madigan *et al.*, 2004).

Menurut Pradhika (2006), mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat ataupun membunuh bakteri adalah sebagai berikut: (1) menghambat sintesis dinding sel, (2) merusak permeabilitas membran sel, (3) menghambat sintesis RNA (proses transkripsi), serta (4) menghambat sintesis protein (proses translasi penghambat replikasi DNA). Menurut Pelczar dan Chan (1988), pada umumnya mekanisme kerja antibakteri yaitu: (a) merusak dinding sel yaitu dengan menghambat pembentukan

dan mengubahnya setelah selesai terbentuk. Contoh: penisilin. (b) mengganggu permeabilitas sel yaitu dengan merusak membran sel. Fungsi membran sel adalah mempertahankan bahan-bahan dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Adanya kerusakan pada membran ini mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Contoh: polimiskin. (c) merubah molekul protein dan asam nukleat yaitu dengan mendenaturasikan protein dan asam nukleat sehingga kerusakan sel tidak dapat diperbaiki lagi karena hidup suatu sel tergantung pada molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Contoh: fenoleat dan persenyawaan fenoleat. (d) mengambat kerja enzim dengan mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan tergantungnya metabolisme sel. Contohnya: sulfonamid. (e) menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Gangguan pada pembentukan atau fungsi-fungsi DNA, RNA dan protein. Dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel karena zat-zat tersebut memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Contoh: tetrasiklin.

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam bentuk bergerombol yang tidak teratur seperti anggur. *S. aureus* bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. *S. aureus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba (Jawetz *et al.*,1996). *S. aureus* umumnya sensitif terhadap antibiotik β -laktam, tetrasiklin, dan kloramfenikol, tetapi resisten terhadap polimiksin (Pelezar dan Chan, 1986). *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. *S. aureus*

Sumber: Google image^f (2014)

S. 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 30 menit. Pangan dapat tercemar bakteri ini adalah produk pangan kaya protein, misalnya susu, ikan, daging ternak; produk pangan matang yang ditunjukkan dikonsumsi dalam keadaan dingin seperti puding, salad dan sandwich; produk pangan yang terpapar pada suhu hangat selama beberapa jam; pangan yang disimpan pada lemari pendingin yang terlalu penuh atau 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).

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).

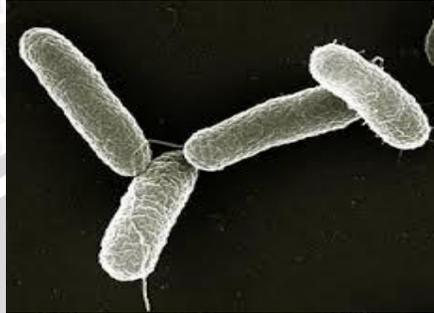
2.4.2 *Salmonella typhi*

S. typhi merupakan bakteri patogen yang berbahaya. Selain menyebabkan gejala kelainan gastrointestinal, *S. typhi* juga dapat menyebabkan demam tifus dan paratifus dan salmonellosis (Fardiaz, 1992). *S. typhi* merupakan bakteri gram negatif, dan patogen dalam saluran pencernaan karena dapat menyebabkan *enteric fever*, *gastro enteric* atau keracunan makanan (Duerden *et al.*, 1993). Klasifikasi *S. typhi* menurut Salmi (2006), adalah sebagai berikut:

| | |
|---------|-------------------|
| Phylum | : Eubacteria |
| Class | : Proteobacteria |
| Ordo | : Eubacteriales |
| Family | : Enterobacteriae |
| Genus | : Salmonella |
| Spesies | : <i>S. typhi</i> |

S. typhi dapat memproduksi asam hasil fermentasi dan H₂S, tumbuh pada suhu optimum 37°C dengan pH 4 – 9 serta memiliki aw minimum 0,94 (Varnam dan Sutherland, 1995). *Salmonella sp.* termasuk dalam famili *Enterobactericeae*, memiliki bentuk batang, anaerob fakultatif dan memiliki flagella peritrikat. Bakteri ini

sangat sensitif terhadap panas sehingga dapat dimusnahkan dengan proses pasteurisasi (Fardiaz, 1992). *S. typhii* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. *S. typhii*

Sumber: Google image⁹ (2014)

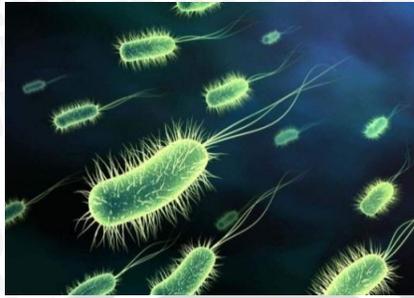
Aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri *S. typhii* yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri 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 *et al.*, 2008).

2.4.3 *Escherichia coli*

Organisme ini tersebar luas di alam biasanya lazim terdapat dalam pencernaan manusia dan hewan. Spesies *E. coli* tidak dapat mengurangi asam sitrat dan garam asam sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan tidak menghasilkan pigmen, tetapi kadang-kadang menghasilkan pigmen berwarna kuning. *E. coli* ditularkan bersama air atau makanan yang terkontaminasi oleh feses. *E. coli* berbentuk batang, tebal 0,5 μm , panjang antara 1,0-3,0 μm , bervariasi dari bentuk koloid sampai berbentuk seperti filamen yang panjang, tidak berbentuk spora, motil dan filamen perithin beberapa galur tidak memiliki flagella, bersifat gram negatif (Wasitaningrum, 2009). Menurut Brooks *et al.*, (2001), klasifikasi bakteri *E. coli* adalah sebagai berikut:

| | |
|---------|---------------------------|
| Kingdom | : Procaryota |
| Devisio | : Gracilicutes |
| Class | : Scotobacteria |
| Ordo | : Eubacteriales |
| Family | : Entobacteriaceae |
| Genus | : <i>Escherichia</i> |
| Species | : <i>Escherichia coli</i> |

E. coli disebut juga koliform fekal karena ditemukan dalam saluran usus hewan dan manusia. Selain itu *E. coli* juga sering dijadikan indikator kontaminasi kotoran (Fardiaz, 1992). Menurut Pelezar (1988), *E. coli* merupakan bakteri gram negatif bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif, sering dijumpai pada usus bagian bawah. *E. coli* bisa tumbuh dengan baik pada media yang lazim digunakan di Laboratorium Mikrobiologi, memberikan hasil positif pada tes indol, lisin-dekarboksilase dan fermentasi manitol serta memproduksi gas dari glukosa. *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. *E. coli*

Sumber: Google image^h (2014)

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai komponen dinding sel peptidoglikan yang lebih tipis dibandingkan dengan bakteri gram positif tetapi bakteri gram negatif mempunyai dua membranya itu membran luar dan membran dalam, membran luar tidak terdapat pada bakteri gram positif. Membran luar bakteri gram negatif mengandung protein, lipid, lipoprotein dan lipopolisakarida (Jawetz *et al.*, 2008).

Struktur sel *E. coli* adalah bakteri gram negatif lebih banyak mengandung lipid, sedikit peptidoglikan, membran luar berupa bilayer (berfungsi sebagai pertahanan selektif senyawa-senyawa yang keluar atau masuk sel dan menyebabkan efek toksik). Membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam), dan lipopolisakarida (lapisan luar) tersusun atas lipid A, yang bersifat non polar (Dewi, 2010).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian terdiri dari bahan penelitian dan alat penelitian. Bahan dan alat pada penelitian pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan antara lain:

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu beberapa spesies rumput laut cokelat (*Sargassum* spp) yang diperoleh dari perairan Sumenep, Madura, Jawa Timur, dan biakan murni bakteri *S. aureus*, *S. typhi* dan *E. coli* dengan kepadatan 10^8 koloni/mL yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.

Bahan lain yang digunakan pada penelitian ini antara lain : heksan (C_6H_{14}) dan MHA (*Mueller Hinton Agar*). Bahan pembantu yang digunakan yaitu Na-fis 0,9%, akuades, kertas saring whattman no.1, tisu, kertas label, kertas cakram (*blank disk*) dengan diameter 6 mm, aluminium foil, kapas, cotton swab, DMSO (Dimetil sulfoksida), tetrasiklin, alkohol 70% dan air.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam ekstraksi senyawa antibakteri rumput laut adalah corong, botol plastik, gelas ukur, spatula, *vacum rotary evaporator*, timbangan analitik dan botol vial. Peralatan yang digunakan untuk uji cakram antara lain autoklaf, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikro pipet, jarum ose, cawan petri, waterbath, inkubator, pinset, triangle, bunsen, korek api dan vortex mixer. Identifikasi kandungan senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak rumput laut yaitu menggunakan 1 unit GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*).

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada skripsi ini yaitu metode deskriptif. Metode deskriptif digunakan untuk mencapai tujuan utama yaitu mengetahui aktivitas antibakteri *Sargassum* spp dengan heksan terhadap *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*.

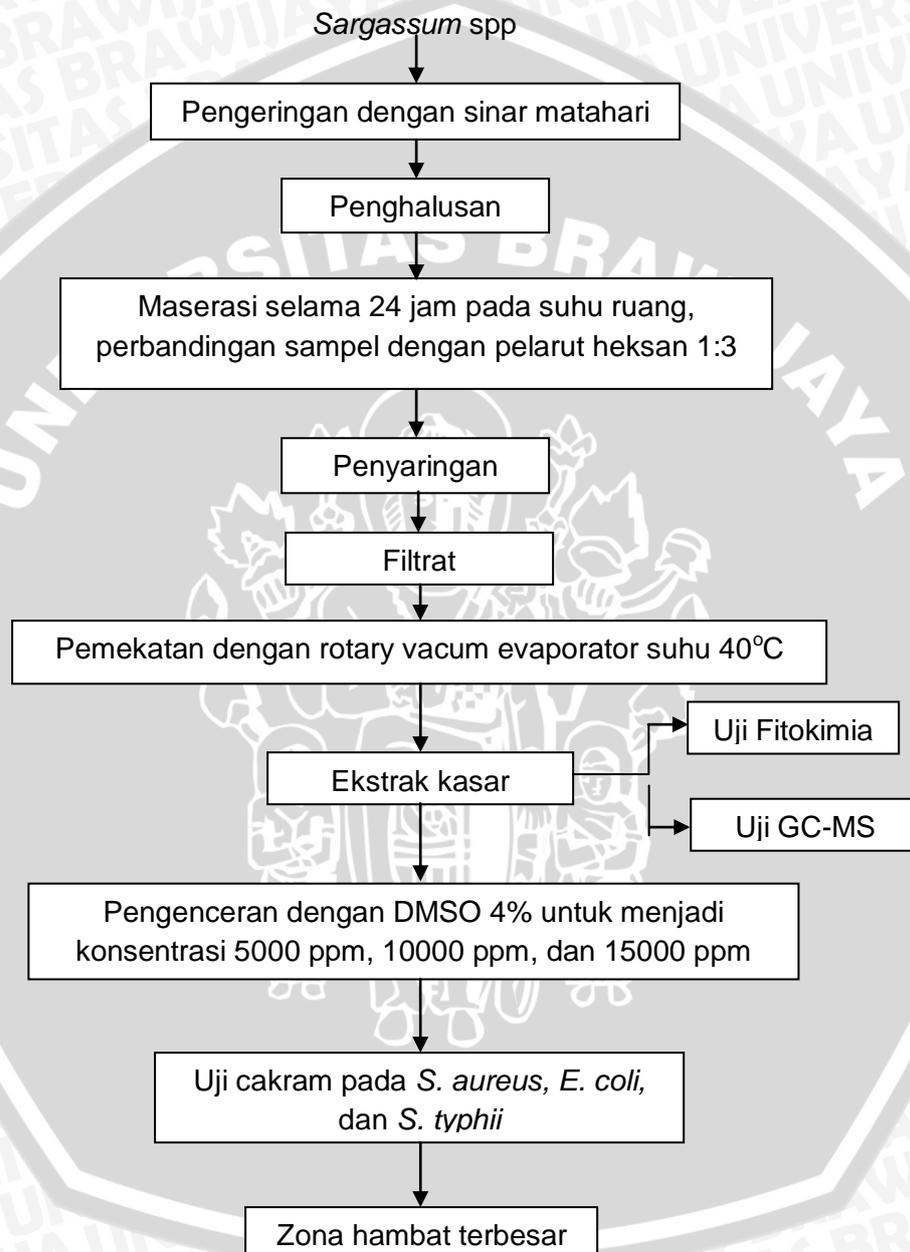
Metode deskriptif merupakan metode penyelidikan yang menuturkan dan mengklasifikasikan data yang diperoleh dari berbagai teknik pengambilan data. Tujuan dari pelaksanaan metode deskriptif adalah untuk memaparkan secara sistematis, faktual, dan akurat mengenai fakta serta sifat dari suatu populasi tertentu. Pengumpulan data sesuai dengan tujuan dan secara rasional kesimpulan diambil dari data yang berhasil dikumpulkan (Surakhmad, 1994). Tujuan dari penelitian deskriptif adalah untuk memberikan gambaran atau deskripsi yang sistematis, aktual dan akurat mengenai fakta, sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki (Nasir, 1989).

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan terhadap *S. aureus*, *S. typhii* 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.

Tahap 2 yaitu proses ekstraksi dengan heksan 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 dengan pelarut heksan terhadap *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*. Tahap 3 yaitu identifikasi senyawa bioaktif *Sargassum* spp. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan gambaran mengenai senyawa-senyawa

yang paling kuat menghambat *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*. Adapun skema kerja daya hambat ekstrak dengan pelarut heksan *Sargassum* spp terhadap penghambatan *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Skema kerja daya hambat ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan terhadap penghambatan bakteri *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*

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.

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 permukaan pada ekstrak *Sargassum* spp.

Sargassum spp dilakukan perendaman (maserasi) selama 24 jam pada suhu ruang. Tujuan dari maserasi yaitu untuk menarik senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum* spp. Pada proses maserasi sampel dan pelarut yang digunakan yaitu 50 gram *Sargassum* spp dan 150 mL heksan dengan perbandingan sampel : pelarut yaitu 1:3. Kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring whattman no. 1 untuk memisahkan antara filtrat dan residunya. Filtrat yang diperoleh dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40⁰ 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 dilakukan 5 uji yaitu uji alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin. 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 Chromatografi*) dengan menggunakan mesin GC-MS Agilent Technologies 5975 C 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 dari 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%.

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. *Sargassum* spp halus ditimbang sebanyak 50 g, kemudian sampel dimasukkan ke dalam botol plastik dan dimasukkan pelarut heksan. 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 (27⁰C) 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 40⁰C 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:

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

3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Sargassum* spp.

Prosedur pengujian antibakteri penelitian ini menggunakan metode cawan agar difusi Kirby-Bauer. Prinsip uji ini adalah pada lempeng agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji ditempelkan cakram kertas yang berisi berbagai antibiotik. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antibiotik terlihat sebagai wilayah jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).

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 *S. aureus*, *S. typhi* dan *E. coli*. Kepadatan bakteri yang digunakan sesuai dengan standart kepadatan McFarland 0,5 yaitu 10^8 koloni/mL.

Biakan murni *S. aureus*, *S. typhi* dan *E. coli* 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. Kemudian, kertas cakram yang telah direndam ditempelkan di atas agar MHA yang telah dibiakkan 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.

3.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tannin. Metode uji didasarkan pada Harborne (1987).

- Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan 5 mL ekstrak ditambahkan 2 mL HCl. Selanjutnya reagen Dragendorff ditambahkan. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga jingga.

- Flavonoid

Ekstrak 1 mL ditambahkan beberapa tetes sodium hidroksida. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

- Terpenoid
Untuk uji terpenoid, ekstrak 0,5 g ditambahkan 2 mL kloroform, asam sulfat (3 mL) perlahan ditambahkan sampai terbentuk lapisan berwarna. Warna merah kecoklatan menunjukkan positif terpenoid.
- Tanin
Sampel dididihkan kemudian disaring dan ditambahkan FeCl_3 . Adanya warna biru tua atau hijau kehitaman yang terbentuk menunjukkan adanya tanin.
- Saponin (uji busa)
Ekstrak 0,5 g ditambahkan 5 mL akuades dalam tabung reaksi dan dikocok. Kemudian ditambahkan tiga tetes minyak zaitun dan dikocok ulang dengan cepat. Jika terbentuk emulsi maka menunjukkan positif saponin.

3.5 Identifikasi Senyawa Ekstrak *Sargassum* spp dengan Pelarut Heksan pada Uji GC-MS

Uji GC-MS dilakukan untuk mengetahui senyawa daya antibakteri dari ekstrak *Sargassum* spp terhadap *S. aureus*, *S. typhi* dan *E. coli*. Menurut analisis GC-MS dilakukan menggunakan mesin GC-MS 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 gerak adalah gas pembawa yaitu helium. Suhu injektor GC ditetapkan 295°C sehingga suhu oven ditetapkan 70°C selama 2 menit dan kemudian meningkat sebesar $10^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ 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

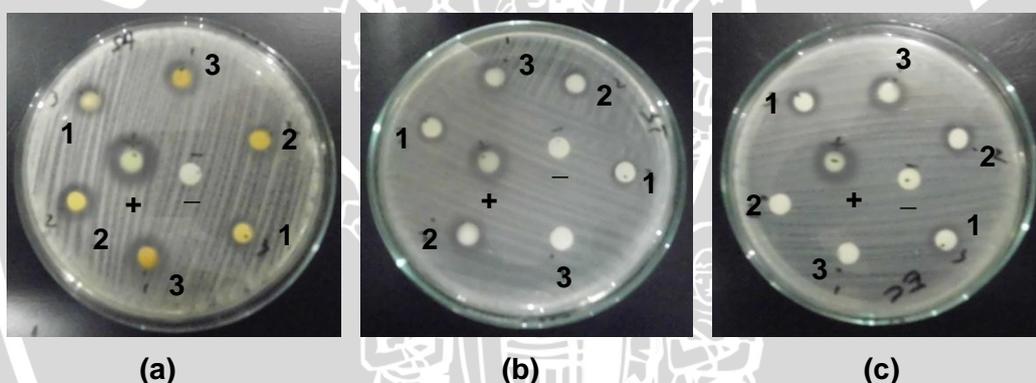
data dari detektor spektrometri massa dikirim ke komputer dan diplot dalam sebuah grafik yang disebut spektrum massa.

Prinsip kerja Kromatografi Gas-Spekroskopi 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).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram)

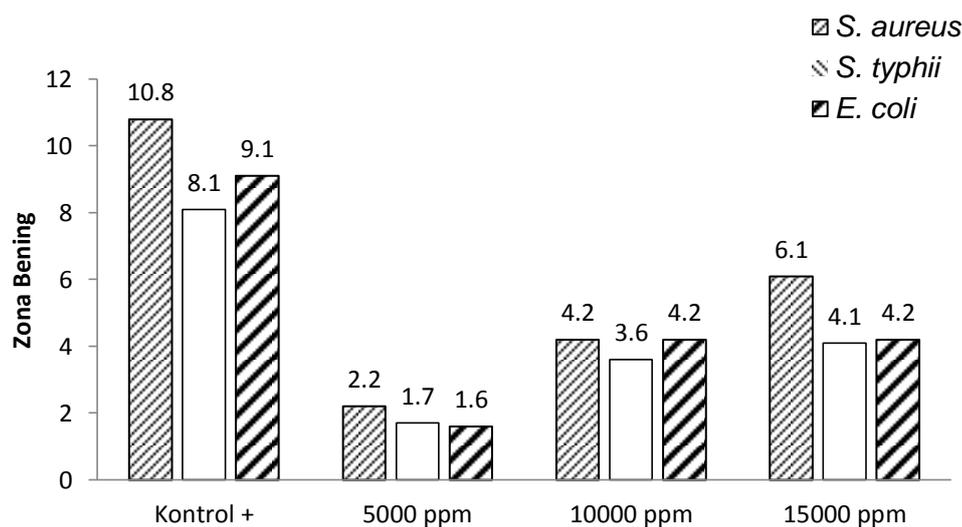
Pada penelitian ini digunakan pelarut heksan dalam mengekstrak *Sargassum* spp, karena heksan merupakan pelarut non polar yang dapat mengekstraksi senyawa non polar. Didukung oleh Munawaroh dan Handayani (2010), heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat. Oleh karena itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan juga tergantung jenis pelarutnya. Proses ekstraksi dengan pelarut heksan menghasilkan senyawa yang agak kental berwarna kuning cerah dan berbau pelarut. Zona bening ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dapat dilihat pada Gambar 11 dan 12.



Keterangan:

- | | |
|----------------------|-------------------------------|
| (a) <i>S. aureus</i> | (1) ekstrak 5.000 ppm |
| (b) <i>S. typhii</i> | (2) ekstrak 10.000 ppm |
| (c) <i>E. coli</i> | (3) ekstrak 15.000 ppm |
| (+) | kontrol positif : tetrasiklin |
| (-) | kontrol negatif : DMSO 4% |

Gambar 11. Zona bening *S.aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* pada berbagai konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan



Gambar 12. Zona bening *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* pada berbagai konsentrasi ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan

Zona bening untuk ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan yang paling tinggi yaitu pada *S. aureus* dengan konsentrasi 15000 ppm. Zona bening tertinggi pada kontrol positif terdapat pada *S. aureus*. *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Antigen ini merupakan kompleks peptidoglikan asam teikhoat yang dapat menghambat fagositosis. *S. aureus* bersifat lisogenik, yaitu mengandung faga yang tidak berpengaruh pada dirinya sendiri, tetapi menyebabkan lisis pada anggota dari spesies sama (Warsa, 1994).

Pada *E. coli* mempunyai zona hambat yang efektif pada konsentrasi 5000 ppm, sedangkan untuk *S. aureus* dan *S. typhii* mempunyai zona hambat yang efektif pada konsentrasi 15000 ppm. Pada *E. coli* yang mempunyai efektivitas zona hambat pada konsentrasi rendah, hal ini diduga karena semakin tinggi konsentrasi tidak berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan. Ditambahkan oleh Dewi (2010), 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 *S. aureus* dan

S. typhii yang mempunyai efektivitas zona hambat pada konsentrasi tinggi, hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1988) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula.

Pada *S. aureus* mempunyai zona hambat yang lebih besar dari pada *S. typhii* dan *E. coli*, hal ini disebabkan *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 ke dalam 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 *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).

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, *S. aureus* dikatakan resisten terhadap tetrasiklin dikarenakan membentuk zona hambat sebesar 10,8 mm. Untuk *S.*

typhii dan *E. coli* dikatakan tidak sensitif terhadap tetrasiklin dikarenakan membentuk zona hambat masing-masing sebesar 8,1 mm dan 9,1 mm. Perlakuan terbaik dari uji cakram dari ekstrak *Sargassum* spp yang diekstrak dengan menggunakan pelarut heksan pada *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* memiliki zona hambat dengan rata-rata 3,86 mm, hal ini menjelaskan bahwa senyawa antibakteri dari ekstrak *Sargassum* spp bersifat tidak sensitif. Meskipun belum efektif digunakan pada *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* namun dari penelitian ini mampu didapatkan informasi adanya aktivitas antibakteri dari senyawa yang diekstrak dari *Sargassum* spp.

4.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan. Fitokimia yang diuji yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin. Hasil pengujian kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak rumput laut *Sargassum* sp dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Fitokimia Ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan

| Jenis Pengujian | Hasil Pengujian / Pemeriksaan |
|-----------------|-------------------------------|
| Uji fitokimia | <i>Sargassum</i> spp. |
| Alkaloid | + |
| Tanin | - |
| Saponin | + |
| Flavonoid | + |
| Terpenoid | - |
| Keterangan : | |
| - | : Negatif |
| + | : Positif lemah |

Pada Tabel 2 memperlihatkan bahwa pada ekstrak *Sargassum* spp mengandung alkaloid, saponin, dan flavonoid. Pada saponin dan flavonoid menghasilkan positif lemah. Menurut Septiana *et al.*, (2012) hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa metode ekstraksi dan jenis pelarut tidak mempengaruhi

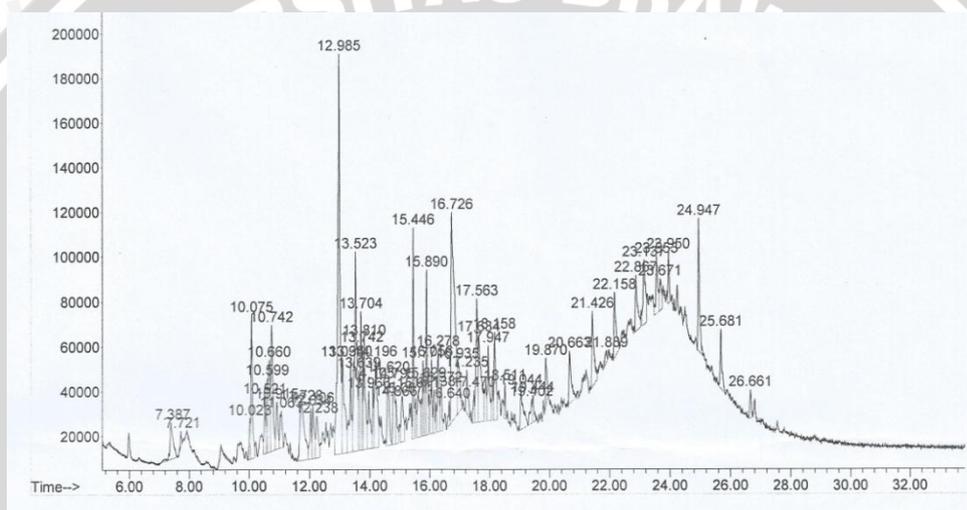
kandungan flavonoid dan saponin. Hal ini diduga karena dalam berdasarkan strukturnya, flavonoid maupun saponin mempunyai bagian yang bersifat polar maupun non polar dengan bagian yang hampir sama. Seperti halnya flavonoid dan saponin, terpenoid mempunyai bagian polar dan non polar, tetapi non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan bagian polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar.

Pada alkaloid juga menghasilkan positif lemah, menurut Setyati *et al.*, (2005), alkaloid merupakan senyawa nitrogen yang mempunyai kemampuan bioaktivitas. Sumber senyawa alkaloid potensial terdapat pada tumbuhan yang tergolong dalam kelompok gimnospermae, paku-pakuan, lumut dan tumbuhan tingkat rendah lainnya namun beberapa peneliti adanya mengatakan bahwa alkaloid banyak terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi.

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). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995). 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). Berdasarkan hasil pengujian fitokimia ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung berbagai senyawa bioaktif yang bisa menghambat dan membunuh bakteri.

4.3 Identifikasi Senyawa Aktif

Identifikasi untuk menentukan profil senyawa antibakteri dalam ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dilakukan dengan menggunakan uji GC-MS. Adapun hasil dari GC-MS adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu atau dua jenis senyawa. Ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan menunjukkan hasil 16 senyawa teridentifikasi. Senyawa yang teridentifikasi dari ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Spektra Ekstrak *Sargassum* spp dengan Pelarut Heksan

Berdasarkan hasil kromatografi tersebut, ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan yang diduga mengandung macam-macam senyawa antibakteri berupa jenis senyawa alkana, alkena, alkanol, dan asam karboksilat dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Senyawa Antibakteri Hasil Analisis GC-MS Ekstrak *Sargassum* Spp dengan Pelarut Heksan

| Jenis Senyawa | Rumus Molekul | Berat Molekul | Puncak |
|-------------------------------------|-------------------|---------------|--------|
| Tridecane 1-iodo | $C_{13}H_{27}I$ | 310 | 4 |
| Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl) | $C_{14}H_{22}O$ | 206 | 6 |
| Tritetracontane methoxyacetic acid | $C_{43}H_{88}$ | 605 | 11 |
| Octadecane n-octadecane | $C_{18}H_{38}$ | 254 | 12 |
| Tetracosane n-tetracosane | $C_{24}H_{50}$ | 338 | 14 |
| Eicosane n-eicosane | $C_{20}H_{42}$ | 282 | 15 |
| Tetratetracontane | $C_{44}H_{90}$ | 619 | 16 |
| Pentadecane n-pentadecane | $C_{15}H_{32}$ | 212 | 18 |
| Hexacosane n-hexacosane | $C_{26}H_{54}$ | 366 | 25 |
| Heneicosane n-heneicosane | $C_{21}H_{44}$ | 296 | 30,47 |
| Tricosane | $C_{23}H_{48}$ | 324 | 34 |
| Hentriacontane | $C_{31}H_{64}$ | 436 | 35 |
| Arachidonic acid | $C_{20}H_{32}O_2$ | 304 | 40 |
| Pentriacontane | $C_{35}H_{72}$ | 492 | 42 |
| Docosane, 11 decyl | $C_{32}H_{66}$ | 450 | 46 |
| Eicosane n-eicosane | $C_{20}H_{42}$ | 282 | 57,59 |

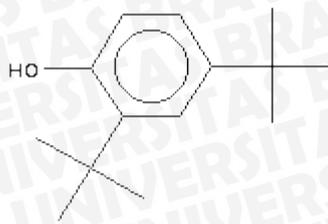
Dari hasil analisis senyawa GC-MS yang terdapat pada tabel di atas menunjukkan bahwa ada 16 senyawa antibakteri yang terkandung dari ekstrak *Sargassum* spp. Pada puncak 4 senyawa yang terkandung adalah *tridecane 1-iodo* yang mempunyai rumus molekul $C_{13}H_{27}I$ dan mempunyai berat molekul 310. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. *Tridecane 1-iodo*

Sumber: Google imageⁱ (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 6 adalah *phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)* yang mempunyai rumus molekul $C_{14}H_{22}O$ dengan berat molekul 206. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)

Sumber: Google image^j (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 11 adalah *Tritetracontane methoxyacetic acid* yang mempunyai rumus molekul $C_{43}H_{88}$ dengan berat molekul 605. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Tritetracontane methoxyacetic acid

Sumber: Google image^k (2014)

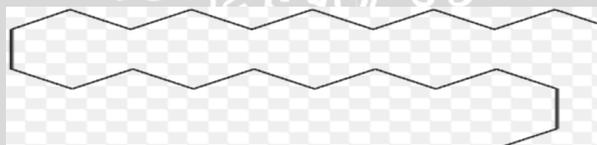
Senyawa yang diasumsikan memiliki keterikatan dalam kemampuan antioksidan dan antibakteri adalah golongan fenolik. Komponen fenolik merupakan substansi yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil sehingga sifatnya mudah larut dalam pelarut polar. Menurut Nychas dan Tassou (2000), senyawa yang bersifat antimikroba alami berasal dari tanaman salah satunya adalah fenolik. Sedangkan Menurut Pelczar dan Chan (1998), cara kerja fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hydrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membrane sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Octadecane n-octadecane

Sumber: Google image^l (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 12 adalah *Octadecane n-octadecane* yang mempunyai rumus molekul $C_{18}H_{38}$ dengan berat molekul 254. Senyawa yang diduga bersifat antibakteri yaitu *octadecane*, *eicosane*, *pentadecane* dan *docosane*. Didukung oleh Mishra dan Shree (2007), bahwa senyawa seperti *1-Octadecene* dan *Hexadecene* ditemukan pada tanaman dan algae yang bersifat sebagai antikanker, antioksidan dan antibakteri. Ditambahkan pula oleh Srivastava dan Kumar (2011), senyawa aktif yang bersifat antibakteri yaitu *Octane*, *1-Octadecene*, *3-Eicosene*, *9-Eicosene*, *1-Hexadecene*, *Docosane* dan *Pentadecane*. Sedangkan menurut penelitian dari Chaloraborty (2007), bahwa kedua senyawa *Eicosene* dan *Heptadecane* mempunyai aktivitas antimikroba yang kuat. Senyawa yang terdapat pada puncak 14 adalah *Tetracosane n-tetracosane* yang mempunyai rumus molekul $C_{24}H_{50}$ dengan berat molekul 338. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Tetracosane n-tetracosane

Sumber: Google image^m (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 15 adalah *Eicosane n-eicosane* yang mempunyai rumus molekul $C_{20}H_{42}$ dengan berat molekul 282. Menurut Nychas dan Tassou (2000), senyawa yang bersifat antimikroba alami berasal

dari tanaman salah satunya adalah fenolik. Sedangkan Menurut Pelczar dan Chan (1998), cara kerja fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hydrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membrane sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak.

Penelitian mengenai aktifitas antibakteri dari golongan fenolik tanaman telah banyak dilakukan, diantaranya oleh Puupponen-Pimia *et al.*, (2000) membuktikan senyawa fenolik dalam ekstrak berry mampu menghambat bakteri gram negatif, diantaranya adalah *Salmonella enterica* SH-5014 dan *Escherichia coli* CM871. Didukung oleh Haraguchi *et al.*, (1998) membuktikan senyawa fenolik tanaman memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif seperti *Stapylococcus* sp. dan *Bacillus* sp. ataupun terhadap bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas* sp. dan bakteri koliform. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 19.

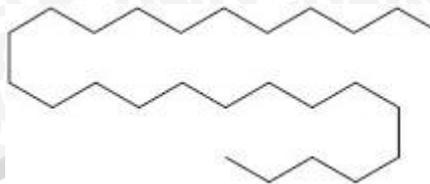


Gambar 19. *Eicosane n-eicosane*

Sumber: Google imageⁿ (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 16 adalah *Tetratetracontane* yang mempunyai rumus molekul $C_{24}H_{50}$ dengan berat molekul 619. *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. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Tetratetracontane

Sumber: Google image^o (2014)

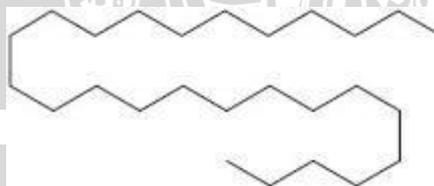
Senyawa yang terdapat pada puncak 18 adalah *Pentadecane* yang mempunyai rumus molekul $C_{15}H_{32}$ dengan berat molekul 212. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Pentadecane

Sumber: Google image^p (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 25 adalah *Hexacosane* yang mempunyai rumus molekul $C_{26}H_{54}$ dengan berat molekul 366. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 22.



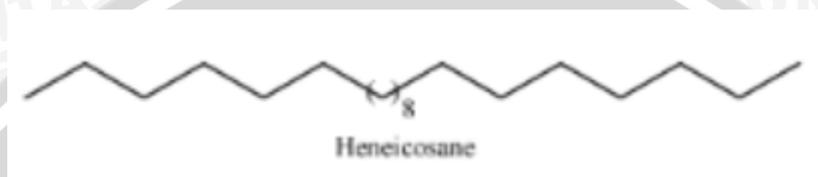
Gambar 22. Hexacosane

Sumber: Google image^q (2014)

Penelitian mengenai aktifitas antibakteri monoterpen dari tanaman telah dilakukan, diantaranya oleh Kubo *et al.*, (1992) membuktikan senyawa monoterpen efektif untuk menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *S. aureus* dan *E. coli*. Demikian juga hasil penelitian dari Vagi *et al.*, (2005) menunjukkan

bahwa senyawa monoterpen dari ekstrak tanaman marjoram (*Oryganum majonara L.*) memiliki aktifitas antibakteri terhadap *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus cereus*.

Senyawa yang terdapat pada puncak 30 dan 47 adalah *Heneicosane* yang mempunyai rumus molekul $C_{21}H_{44}$ dengan berat molekul 296. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Heneicosane

Sumber: Google image^r (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 34 adalah *Tricosane* yang mempunyai rumus molekul $C_{23}H_{48}$ dengan berat molekul 324. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Tricosane

Sumber: Google image^s (2014)

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.

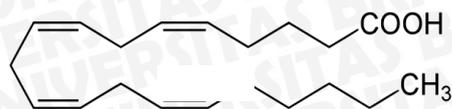
Senyawa yang terdapat pada puncak 35 adalah *Hentriacontane* yang mempunyai rumus molekul $\text{C}_{31}\text{H}_{64}$ dengan berat molekul 436. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 25.



Gambar 25. Hentriacontane

Sumber: Google image^t (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 40 adalah *Arachidonic acid* yang mempunyai rumus molekul $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ dengan berat molekul 304. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 26.

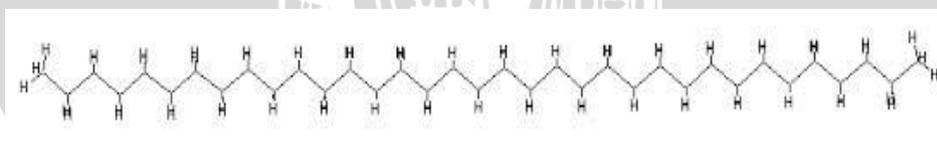


Gambar 26. Arachidonic acid

Sumber: Google image^u (2014)

Eicosatetraenoic, arachidonic acid adalah salah satu senyawa yang termasuk alkana yang merupakan monoterpen. Monoterpen adalah salah satu jenis terpenoid. Terpenoid merupakan penyusun utama minyak atsiri yang merupakan senyawa antimikroba. Penelitian mengenai aktifitas antibakteri monoterpen dari tanaman telah dilakukan, diantaranya oleh Kubo *et al.*, (1992) membuktikan senyawa monoterpen efektif untuk menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Demikian juga hasil penelitian dari Vagi *et al.*, (2005) menunjukkan bahwa senyawa monoterpen dari ekstrak tanaman marjoram (*Oryganum majonara L.*) memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus cereus*.

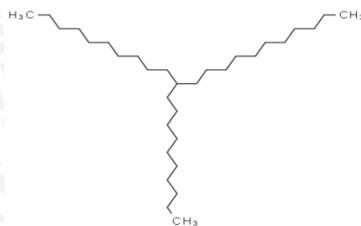
Senyawa yang terdapat pada puncak 42 adalah *Pentatriacontane* yang mempunyai rumus molekul $C_{35}H_{72}$ dengan berat molekul 492. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 27.



Gambar 27. Pentatriacontane

Sumber: Google image^v (2014)

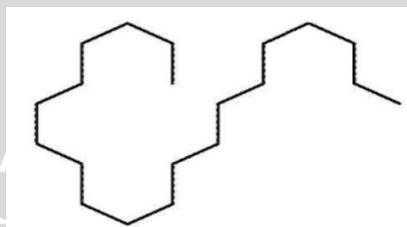
Senyawa yang terdapat pada puncak 46 adalah *Docosane* yang mempunyai rumus molekul $C_{32}H_{66}$ dengan berat molekul 450. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 28.



Gambar 28. Docosane

Sumber: Google image^w (2014)

Senyawa yang terdapat pada puncak 57 dan 59 adalah *Eicosane n-eicosane* yang mempunyai rumus molekul $C_{20}H_{42}$ dengan berat molekul 282. Adapun rumus bangun dari senyawa ini dapat dilihat pada Gambar 29.



Gambar 29. Eicosane n-eicosane

Sumber: Google image^x (2014)

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.

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 (Pelczar dan Chan, 1986).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

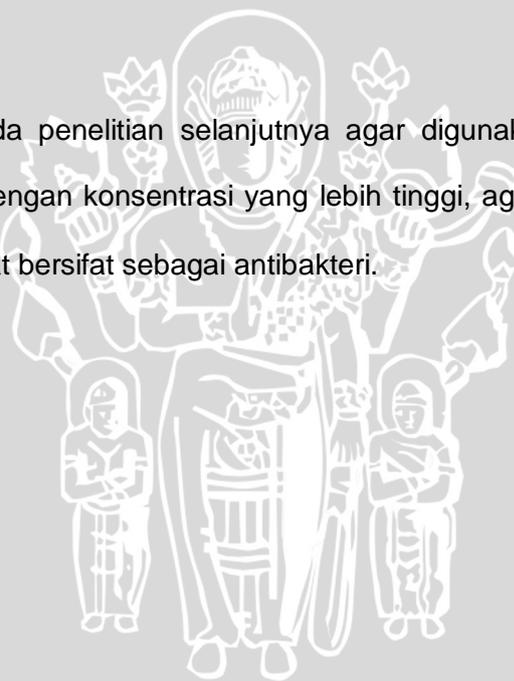
5.1 Kesimpulan

Ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut heksan menghasilkan zona hambat terkuat pada konsentrasi 15000 ppm terhadap *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli*.

Identitas senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak heksan *Sargassum* spp yang menghambat *S. aureus*, *S. typhii* dan *E. coli* antara lain *Methoxyacetic acid*, *Octadecane*, *eicosane*, *pentadecane* dan *docosane*.

5.2 Saran

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



DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta : Universitas Terbuka
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. Bioscientiae. 1(1): 31-38.
- Ardiansyah, 2005. Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan, (Online), (<http://www.beritaipetek.com/zberita-beritaipetek-2005-05-31-Daun-Beluntas-Sebagai-Bahan-Antibakteri-dan-Antioksidan.shtml>), diakses 17 Juni 2014.
- Aslan, L. M. 1991. Budidaya Rumput Laut. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Atmadja, W. S. 2004. Rumput laut sebagai Obat. Oseana Volume XVII. 1:1-8.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2012. Data KLB Keracunan Pangan di Indonesia pada Tahun 2001-2011. Jakarta: BPOM RI.
- Bhat, S. V., B. A. Nagasampagi and S. Meenakshi. 2009. Natural Products : Chemistry and Application. Narosa Publishing House, New Delhi. India.
- Bonang, G dan Enggar S. K. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik. Jakarta: PT. Gramedia.
- Bowo, E.T., Farida J.R., Citra D. A., Nirwani B., dan Nurmasitoh, T. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen, A.M. 2001. Jawetz, Melnick and Adelberg's. Mikrobiologi Kedokteran Alih Bahasa oleh Mudihardi, E. Kuntaman, Wasito, E.B, Mertaniasih, N.M. Harsono, S. dan Alimsardjono, L. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Cannell, R.J.P. 1998. Natural Products Isolation. Human Press, New Jersey.
- Cowan, M.M. 1999. Biology of Conidical Fungi Vol 2. New York : Academic Press Inc (London) Ltd. Hal. 444.
- Davis, S. 2000. Antibacterial Activity Of Extracts Of Six Macroalgae From The Northeastern Brazilian Coast. Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciencias Biologicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte; Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, CE, Brasil. Brazilian Journal Of Microbiology. 33:311-313.
- Day, R. A. And Underwood. 1989. Analisis Kimia Kuantitatif. Penerbit Erlangga. 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.

- Dwidjoseputro, D. 1994. Dasar-dasar Mikrobiologi. Cetakan Ke-13. Djambatan. Jakarta.
- Dwiyana, Z dan Johannes, E. 2013. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Alga Merah (*Euchema cottoni*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Efendi, 1986. Uji Daya Antiinflamasi Fraksi Petroleum Eter, Etil Asetat, dan Fraksi Air Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) pada Tikus Putih, skripsi, Fak. Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Eri, DM., 2007. Efek Anti Bakteri RIP dari Biji Momordica charantia Terhadap Salmonella typhi dan Eschericia coli . Tesis. Program Studi Kedokteran Tropis. Program Pasca Sarjana. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Erika, B.L. 2000. Aromex 510, Pemacu Pertumbuhan dan Efeknya terhadap Kinerja Ayam Broiler. Laporan Penelitian Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor. hlm. 1 – 24.
- Fardiaz, 1992. Mikrobiologi Pangan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fessenden. 1999. Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 3, Terjemahan Aloysius Handayana Pudjaatmaka, Jakarta.
- Frazier, W. C. dan D. C. Westhoff. 1978. Food Microbiology 4th ed. Mc Graw-Hill Book Co, Singapore.
- Gandjar, I. G. Dan A. Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Google image^a . 2014. Rumus Bangun Alkaloid Diakses pada tanggal 28 Juni 2014.
- Google image^b . 2014. Rumus Bangun Flavonoid. Diakses pada tanggal 28 Juni 2014.
- Google image^c . 2014. Rumus Bangun Terpenoid. Diakses pada tanggal 28 Juni 2014.
- Google image^d . 2014. Rumus Bangun Tanin. Diakses pada tanggal 28 Juni 2014.
- Google image^e . 2014. Rumus Bangun Saponin. Diakses pada tanggal 28 Juni 2014.
- Google image^f . 2014. *Staphylococcus aureus*. Diakses pada tanggal 3 Juli 2014.
- Google image^g . 2014. *Salmonella typhii*. Diakses pada tanggal 3 Juli 2014.
- Google image^h . 2014. *Escherichia coli*. Diakses pada tanggal 3 Juli 2014.
- Google imageⁱ . 2014. Rumus Bangun *Tridecane 1-iodo*. Diakses pada tanggal 3 Juli 2014.

Google image^j . 2014. Rumus Bangun *Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)*. Diakses pada tanggal 3 Juli 2014.

Google image^k . 2014. Rumus Bangun *Tritetracontane methoxyacetic acid*. Diakses pada tanggal 7 Juli 2014.

Google image^l . 2014. Rumus Bangun *Octadecane n-octadecane*. Diakses pada tanggal 7 Juli 2014.

Google image^m . 2014. Rumus Bangun *Tetracosane n-tetracosane*. Diakses pada tanggal 7 Juli 2014.

Google imageⁿ . 2014. Rumus Bangun *Eicosane n-eicosane*. Diakses pada tanggal 5 Juli 2014.

Google image^o . 2014. Rumus Bangun *Tetratetracontane*. Diakses pada tanggal 5 Juli 2014.

Google image^p . 2014. Rumus Bangun *Pentadecane n-pentadecane*. Diakses pada tanggal 5 Juli 2014.

Google image^q . 2014. Rumus Bangun *Hexacosane n-hexacosane*. Diakses pada tanggal 5 Juli 2014.

Google image^r . 2014. Rumus Bangun *Heneicosane n-heneicosane*. Diakses pada tanggal 6 Juli 2014.

Google image^s . 2014. Rumus Bangun *Tricosane*. Diakses pada tanggal 10 Juli 2014.

Google image^t . 2014. Rumus Bangun *Hentriacontane*. Diakses pada tanggal 10 Juli 2014.

Google image^u . 2014. Rumus Bangun *Arachidonic acid*. Diakses pada tanggal 10 Juli 2014.

Google image^v . 2014. Rumus Bangun *Pentriacontane*. Diakses pada tanggal 10 Juli 2014.

Google image^w . 2014. Rumus Bangun *Docosane, 11 decyl*. Diakses pada tanggal 3 Juli 2014.

Google image^x . 2014. Rumus Bangun *Eicosane n-eicosane*. Diakses pada tanggal 4 Juli 2014.

Hammed, A. M., I. Jaswir, A. Amid, Z. Alam, T. T. Asiyandi-H. and N. Ramli. 2013. Enzymatic Hydrolysis of Plants and Algae for Extraction of Bioactive Compounds. Food Review International (abstract).

- Handayani, D. Maipa, D., Marlina, Meilan. 2007. Skrining Aktivitas Antibakteri Beberapa Biota Laut dari Perairan Pantai Painan, Sumatera Barat. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas Padang.
- Haraguchi, H. H, Kuwata, Y., Inada K., Shingu K., Miyahara K., Nagao M., Yagi A. 1998. Antifungal Activity from *A. galangal* and the competition for incorporation of unsaturated fatty acid in cell growth. *Plant med* 62 (4) : 308.
- Harborne, J.B. 2006. Fitokimia. Penuntun Cara modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua. Penerbit ITB, Bandung.
- Hartono, T. 2009. Bahan Alam Fitokimia Saponin. <http://farmasi.dikti.net/saponin/>. Diakses pada tanggal 19 Juni 2014.
- Hastari, R. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Herbert RB. 1995. Biosintesis Metabolit Sekunder. Srigandono B, penerjemah. Semarang: IKIP Semarang. Terjemahan dari: *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*.
- Hikmah. 2007. Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) dari minyak dedak dan metanol dengan proses Esterifikasi dan Transesterifikasi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Horvart, P. J. 1981. The Nutritional and Ecological Significance Of Acer- Tannins and Related Polyphenol. M. S. Thesis. Cornell University theca, New York. USA.
- Hostettmann, K. 1991. Bioactivity in Plants: The link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, 30: 3864-3874.
- Jawetz, E., J.L, Melnick, and E. Adelberg. 1995. Medical Microbiology. Apleton and Lange. New York.
- Kadi, A. 2008. Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia. *Oseana* volume XXX No. 4: 19-29.
- Kannan A, Hettiarachchy N, Narayan S. 2009. Colon and breast anti-cancer effects of peptide hydrolysates derived from rice bran. *The Open Bioactive Compounds Journal* 2:17-20.
- Khotimah, K., Darius, Sasmito, B. B. 2013. Uji Aktifitas Senyawa Aktif Alga coklat (*Sargassum fillipendula*) sebagai Antioksidan Pada Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). PS Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kubo, A. Lunde, C.S. dan Kubo, I. 1992. Antimicrobial Activity of the Olive Oil Flavor Compounds. *J. Agric Food Chem*, 49(1):1-32.

- Kusmiyati dan N.W.S Agustini. 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong.
- Lampe MF, Ballweber LM, Isaacs CE, Patton DL, Stamm WE. 1998. Killing of *Chlamydia trachomatis* by novel antimicrobial lipids adapted from compounds in human breast milk. *Antimicro. Agents Chemo.*, 45: 1239-1244.
- Lay, B.H. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Madigan, M., Hoogewerf, G. E., Jung, D.O. 2004. Novel carotenoid glucoside esters from alkaliphilic heliobacteria. *Arch. Microbiol.* 179:95-100.
- Matanjun, P., S. Mohamed, N. M. Mustapha, K. Muhammad and C. H. Ming. 2008. Antioxidant Activities and Phenolics Content of Eight Species of Seaweeds from North Borneo. *J. Appl Phycol*, 20 : 367-373.
- Medicafarma. 2006. Ekstraksi. <http://medicafarma.blogspot.com>. Diakses tanggal 2 Juli 2014.
- Metacyc. 2011. Compound : 2-phenylchromen-4one. <http://bioyc.org/META/NEWMAGE?type=COMPOUND&object=CPD-8485>. Diakses pada tanggal 22 juni 2014.
- Mi-Jeong A. & Jim WK. 2005. Identification and Qualification of Steroidal Saponins in *Polygonatum* Species by HPLC/ESI/MS. *Arch. Pharm. Res.* Vol 28 No5.592-597.
- Moat, J. W., Allbert, G. 2002. *Microbiol Physiology*. The fourth Edition.
- Munawaroh S. dan Handayani P.A. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C) dengan Pelarut Etanol dan N-heksana. *Jurnal Kompetisi Teknik* vol. 2, No. 1. 73-79.
- Mishra PM, Sree A. 2007. Antibacterial Activity and GC-MS Anaylisis of The Extract of Leaves of *Finlaysonia Obovate* (A Mangrove Plant). *Asi. J. Pi. Sci.*, 6 168-172.
- Nurhayati, A. P. D., N. Abdulgani dan R. Febrianto. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker. *Akta Kimindo*, 2 (1) : 41-46.
- Nuria, M.C., Faizatun, A. dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*. Vol.5. No.2. Hal: 26-37.
- Nychas dan Tassou. 2000. Traditional Preservatives Oil dan Spices. *Encyclopedia of Food Mycrobiology*. Volume 1. Academy Press London.

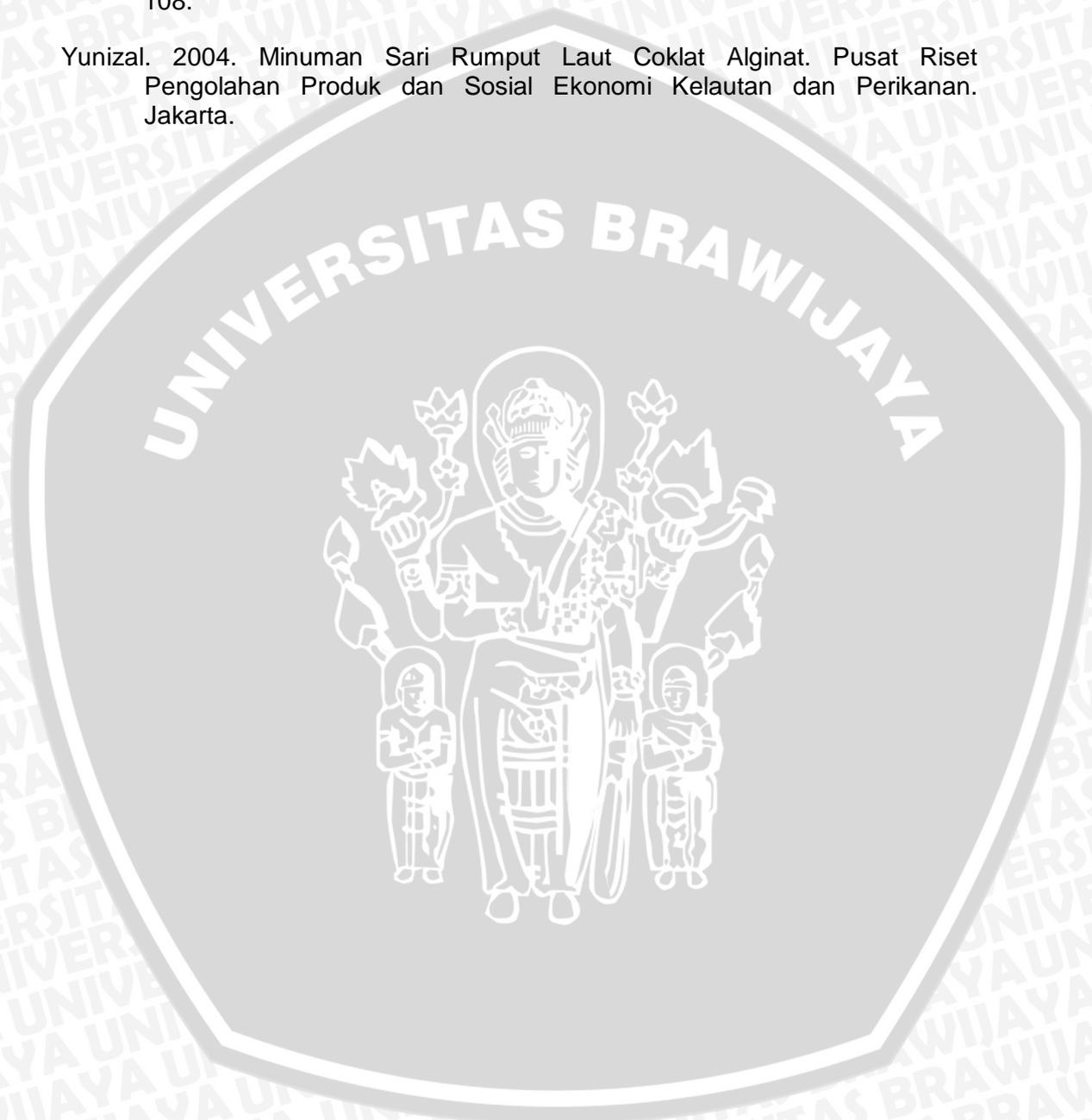
- Pasaribu, S.P., Eva, M., Bobby, S.N. 2008. Uji Fitokimia, Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Jarak Cina (*Jatropha multifida* L.). Jurnal Kimia Mulawarman. 5 (2). ISSN 1693-5616.
- Pelczar, M.J dan E. C. S Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2. Alih Bahasa R. S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 88 hal.
- _____. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 2, Alih Bahasa: Hadioetomo, R. S. & Tjitrosomo, S. L., UI-Press, Jakarta, hal 225-228, 949 dan 954.
- Pradhika, E. I. 2006. Daya Kerja Antimikroba. yanpusmeongblog.com. Diakses pada tanggal 7 Juni 2014.
- Prihanto, A.A, Fidaus, M. Dan Nurdiani, R. 2011. Penapisan Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak Metanol Mangrove (*Excoecaria agallocha*) Dari Muara Sungai Porong. Berk. Penel. Hayati :17 (69-72).
- Purwanti, E. 2007. Senyawa Bioaktif Tanaman Sereh (*Cymbopogon nardus*) Ekstrak Kloroform dan Etanol serta Pengaruhnya Terhadap Mikroorganisme Penyebab Diare. Jurusan Pendidikan Biologi. Fakultas Pendidikan Biologi dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Puupponen-Pimia, R. L. Nohynek, C. Meierl, M. Kaehkonen, M. Heinonen, A. Hopia and K-M. Oksman-Caldentey. 2000. Antimicrobial Properties of Phenolic Compound from Berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90 : 494-507.
- Rahayu, P. Winiati. 2000. Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak. Vol 11 (2). Buletin Teknologi dan Industri Pangan.
- Robinson, T., 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB. Bandung. Hal 71, 153-156, 191 dan 281.
- Rosaline K. D, Shanmugavel S., Kuppu R. 2012. Screening of Selected Marine Algae From The Coastal Tamil Nadu, South India for Antibacterial Activity. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine* (2012) S140-S146. India
- Roth, H.J dan Blaschke, G. 1985. Analisis Farmasi. Alih bahasa: Dr. Sarjono Kisman. Gadjah Mada University Press.
- Sa'ad, 2009. Aktivitas Antibakteri Alga Laut *Caulerpa racemosa* Dari Perairan Pulau Nain. Vol.3, Desember.
- Salmi. 2006. Gen Penekan Tumor p53, Kanker dan Radiasi Pengion. Buletin Alara. Vol. 8 No. 3. April 2007. 119-128. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. Kromatografi. Yogyakarta: Liberty

- Sastry dan Rao. 1994. Antibacterial Substance from Marine Algae. Successive Extraction Using Benzene, Chloroform and Methanol. Departement of Biochemistry. Institute of Medical Science. Banaras Hindu University. India.
- Septiana, A.T. dan Asnani, A. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Agrotek. Vol.6. No. 1.
- Setyati, W.A., Subagiyo, dan Ridlo, A. 2005. Potensi Bioaktivitas Alkaloid dari Lamun (*Seagrass*) *Enhalus acoroides* (L.F) Royle. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro.
- Setiabudy, R. Dan V.H.S. Gan. 2005. Pengantar Antimikroba dalam Farmakologi dan Terapi. Edisi keempat. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Simanjuntak, P. J. 1995. Pengantar Ekonomi Sumber Daya Manusia. Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sjahid. 2008. Jenis- Jenis Rumput Laut Yang Berpotensi Sebagai Obat Yang Tumbuh Pada Berbagai Substrat Dipantai Ranababakan Nusa Kambangan. Cilacap.
- Surakhmad, 1994. Laut Nusantara. Suatu Pendekatan Ekologis. Penerbit Djambatan. 367 hal.
- Srivastava, J.N., Kumar V. 2011 Antibacterial Activity of Crude Extracts of Spirulina Platensis and its Structural Elucidation of Bioactive Compound. Departement of Botany. Dayalbagh. India.
- Tan, H.T. dan Rahardja, K. 2008. Obat-Obat Penting Kasiat, Penggunaan Dan Efek-Efek Sampingnya Edisi :6. Kompas-Gramedia. Jakarta. Hal: 6-12.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. Taksonomi Tumbuhan : *Schizophyta, Thallophyta, Bryophyta dan Pteridophyta*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Vagi, E, Simandi, B. Suhadja, A, Hethelvy, E. 2005. Essential Oil Compotition and Antimicrobial Activity of *Oryganum majonara L.* Extract Obtaineds with Ethyl Alcohol and Supercritical Carbon dioxide. Food Research International 38: 51-57.
- Vogel, A. I. 1987. Textbook of Pactical Organic Chemistry. Resived by Furnies B. S 4nd Edition. New York.
- Volk, W.A and M.F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Edisi Kelima. Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Widyarto, A. N. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Yulianto, K. Penelitian Isolasi Alginat Algae Laut Coklat dan Prospeknya Menuju Industri. Prosiding Seminar Riptek Kelautan Nasional. Jakarta (2): 104-108.

Yunizal. 2004. Minuman Sari Rumput Laut Coklat Alginat. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta.



Lampiran 1. Berat Ekstrak *Sargassum* spp dengan Pelarut Heksan

| <i>Sargassum</i> | W_p (g) | W_{v0} (g) | W_{v1} (g) |
|--------------------|-----------|--------------|--------------|
| <i>Sargassum</i> A | 50 | 24,23 | 24,53 |
| <i>Sargassum</i> B | 50 | 24,23 | 24,63 |
| <i>Sargassum</i> C | 50 | 24,23 | 24,86 |

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

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{24,53 - 24,23}{50} \times 100\% = 0,6\%$$

2. Ekstrak *Sargassum* B

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{24,63 - 24,23}{50} \times 100\% = 0,8\%$$

3. Ekstrak *Sargassum* C

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{24,86 - 24,23}{50} \times 100\% = 1,26\%$$

Lampiran 2. Rata-rata Rendemen Ekstrak *Sargassum* spp dengan Pelarut Heksan

| Rendemen | | | Rerata | Standar deviasi |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------|-----------------|
| <i>Sargassum</i> A | <i>Sargassum</i> B | <i>Sargassum</i> C | | |
| 0,6 | 0,8 | 1,26 | 0,88 | 0,33 |

Lampiran 3. Pembuatan Media *Muller Hilton Agar* (MHA)**Komposisi Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)**

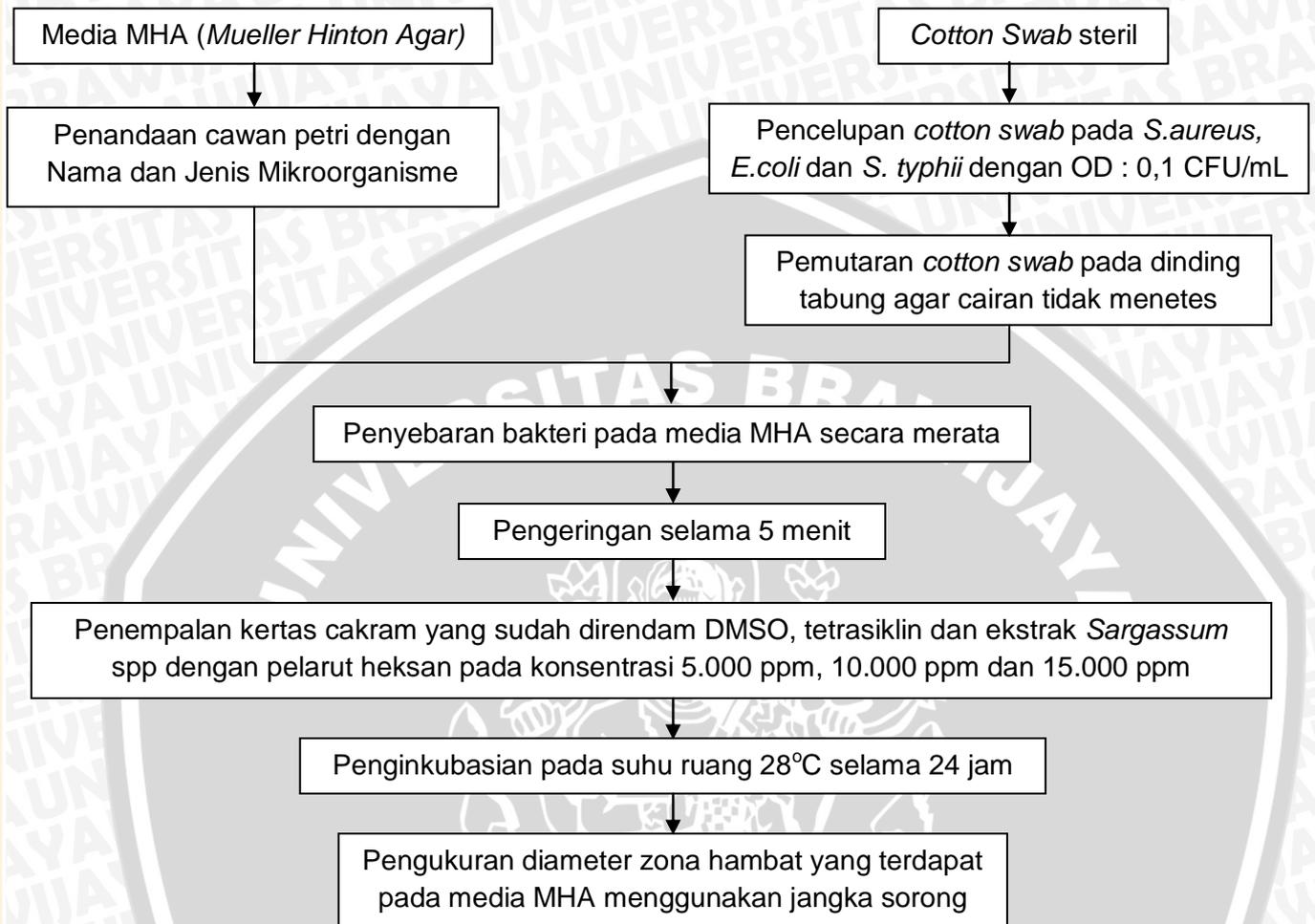
| Komposisi | Jumlah (gr) |
|--------------------|-------------|
| Casein hidrolysate | 17,5 |
| Starch | 1,5 |
| Agar | 13 |
| Infusion from meat | 2,0 |

Sumber : Label media MHA

Prosedur Pembuatan :

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

Lampiran 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 aquades

2. Pembuatan NaOH 2N

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

Banyaknya NaOH yang dibutuhkan dapat dihitung dengan menggunakan

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

$$2N = \frac{x}{40} \times \frac{1000}{100}$$

$$= 8 \text{ gram}$$

3. Pembuatan HCl 2N

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

Banyaknya NaOH yang dibutuhkan dapat dihitung dengan menggunakan

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

$$2N = \frac{x}{36} \times 83,3$$

$$= 1,16 \text{ gram}$$

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

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

$$= \frac{0,4}{10} \times 100 \%$$

$$= 4 \%$$

$$1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg/L} = 1 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

- 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-MS Ekstrak *Sargassum* spp dengan pelarut Heksan

| No. | Jenis Senyawa | Rumus Molekul | Berat Molekul | Puncak |
|-----|-------------------------------------|----------------------|---------------|-------------|
| 1 | Tetradecane n-tetradecane | $C_{14}H_{30}$ | 198 | 1 |
| 2 | 1-Octanol 2-butyl | $C_{12}H_{26}O$ | 186 | 2 |
| 3 | Heneicosane n-heneicosane | $C_{21}H_{44}$ | 296 | 3,30,47 |
| 4 | Tridecane 1-iodo | $C_{13}H_{27}I$ | 310 | 4 |
| 5 | Sulfurous acid, 2 propyl tetradecyl | $C_{17}H_{36}O_3S$ | 320 | 5 |
| 6 | Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl) | $C_{14}H_{22}O$ | 206 | 6 |
| 7 | Phenol 2,5 bis (1,1 dimethyl ethyl) | $C_{14}H_{22}O$ | 206 | 7 |
| 8 | Octadecane 3 ethyl-5 (2-ethylbutyl) | $C_{26}H_{54}$ | 366 | 8,10 |
| 9 | Sulfurous acid, 2 propyl tridecyl | $C_{16}H_{34}O_3S$ | 306 | 9 |
| 10 | Tritetracontane methoxyacetic acid | $C_{43}H_{88}$ | 605 | 11 |
| 11 | Octadecane n-octadecane | $C_{18}H_{38}$ | 254 | 12 |
| 12 | Exo ethenyl-8-exo | $C_{10}H_{14}$ | 134 | 13 |
| 13 | Tetracosane n-tetracosane | $C_{24}H_{50}$ | 338 | 14 |
| 14 | Eicosane n-eicosane | $C_{20}H_{42}$ | 282 | 15,37,57,59 |
| 15 | Tetratetracontane | $C_{44}H_{90}$ | 619 | 16 |
| 16 | Dotriacontyl pentafluoropropionate | $C_{35}H_{65}F_5O_2$ | 612 | 17 |
| 17 | Pentadecane n-pentadecane | $C_{15}H_{32}$ | 212 | 18,19,21 |
| 18 | 1-Dodecanol, 2-octyl-1-dodecanol | $C_{20}H_{42}O$ | 298 | 20 |
| 19 | 2-methylhexacosane | $C_{27}H_{56}$ | 380 | 22,26,44 |
| 20 | Octatriacontane, 1,38-dibromo | $C_{38}H_{78}$ | 535 | 23 |
| 21 | Sulfurous acid, octadecyl 2-propyl | $C_{21}H_{44}O_3S$ | 376 | 24 |
| 22 | Hexacosane n-hexacosane | $C_{26}H_{54}$ | 366 | 25 |
| 23 | Benzyl (dideuterated) methyl ether | $C_{18}H_{38}O_3S$ | 334 | 27 |
| 24 | Ethanol, 2-(octadecyloxy) | $C_{20}H_{42}O_2$ | 314 | 28 |
| 25 | Nonadecane n-nonadecane | $C_{19}H_{40}$ | 268 | 29,50,52 |
| 26 | Nonahexacontanoic | $C_{69}H_{138}O_2$ | 999 | 31 |
| 27 | Hexatriacontane n-hexatriacontane | $C_{36}H_{74}$ | 556 | 32,49 |
| 28 | Tetratriacontane n-tetratriacontane | $C_{34}H_{70}$ | 478 | 33 |
| 29 | Tricosane n-tricosane | $C_{23}H_{48}$ | 324 | 34 |
| 30 | Hentriacontane n-hentriacontane | $C_{31}H_{64}$ | 436 | 35 |
| 31 | Dodecane, 1,1-oxybis Dodecyl | $C_{24}H_{50}O$ | 354 | 36,43 |
| 32 | Tetrapentacontane, 1,54-dibromo | $C_{54}H_{110}$ | 759 | 38,58,61 |
| 33 | Nonahexacontanoic acid | $C_{69}H_{138}O_2$ | 699 | 39 |
| 34 | Arachidonic acid | $C_{20}H_{32}O_2$ | 304 | 40 |
| 35 | Bicyclo non-8-ene 4,7-Methano | $C_{10}H_{14}O$ | 150 | 41 |
| 36 | Pentriacontane n-pentriacontane | $C_{35}H_{72}$ | 492 | 42 |
| 37 | Beta h-pregna | $C_{20}H_{40}O$ | 296 | 45 |
| 38 | Docosane, 11 decyl | $C_{32}H_{66}$ | 450 | 46,51 |
| 39 | Allyl cyclohexyl carbonate | $C_{37}H_{59}NO_7$ | 629 | 48 |
| 40 | Pentatriacontane, 1-bromo | $C_{35}H_{72}$ | 492 | 53 |
| 41 | Sulfurous acid, butyl tetradecyl | $C_{18}H_{38}O_3S$ | 334 | 54 |
| 42 | 28-Nor-17 alpha | $C_{29}H_{50}$ | 398 | 63 |
| 43 | Hexamethyl cyclohexasiloxane | $C_6H_{18}O_3Si_3$ | 222 | 64 |

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

Zona bening *S.aureus*

| Perlakuan | <i>Sargassum</i> A | <i>Sargassum</i> B | <i>Sargassum</i> C | Rerata ± Standar Deviasi (mm) |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|
| | <i>S. aureus</i> | <i>S. aureus</i> | <i>S. aureus</i> | |
| Kontrol + | 10,8 | 11,4 | 10,2 | 10,8 ± 0,6 |
| 5.000 ppm | 2,1 | 2,4 | 2,1 | 2,2 ± 0,17 |
| 10.000 ppm | 3,8 | 4,4 | 4,2 | 4,2 ± 0,34 |
| 15.000 ppm | 5,4 | 6,1 | 6,8 | 6,1 ± 0,7 |

Zona bening *S.typhii*

| Perlakuan | <i>Sargassum</i> A | <i>Sargassum</i> B | <i>Sargassum</i> C | Rerata ± Standar Deviasi (mm) |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|
| | <i>S. typhii</i> | <i>S. typhii</i> | <i>S. typhii</i> | |
| Kontrol + | 7,8 | 8,1 | 7,4 | 7,1 ± 0,3 |
| 5.000 ppm | 2,1 | 1,2 | 1,8 | 1,7 ± 0,45 |
| 10.000 ppm | 3,2 | 4,2 | 3,4 | 3,6 ± 0,52 |
| 15.000 ppm | 4,2 | 3,5 | 4,6 | 4,1 ± 0,55 |

Zona bening *E.coli*

| Perlakuan | <i>Sargassum</i> A | <i>Sargassum</i> B | <i>Sargassum</i> C | Rerata ± Standar Deviasi (mm) |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>E. coli</i> | <i>E. coli</i> | |
| Kontrol + | 10,1 | 8,8 | 7,4 | 8,1 ± 0,88 |
| 5.000 ppm | 1,8 | 0,8 | 2,2 | 1,6 ± 0,72 |
| 10.000 ppm | 1,6 | 2,1 | 1,1 | 1,6 ± 0,5 |
| 15.000 ppm | 4,1 | 4,4 | 4,1 | 4,2 ± 0,17 |

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 heksan



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



7. Pemisahan pelarut dengan vacuum rotary evaporator



8. Diambil ekstrak heksan *Sargassum* spp



9. Botol kosong ditimbang sebagai berat awal



10. Ekstrak heksan ditimbang sebagai berat akhir



11. Ekstrak Heksan *Sargassum* spp



12. Ekstrak heksan di panaskan pada suhu 70 °C



13. Ekstrak heksan ditimbang sebanyak 20 mg



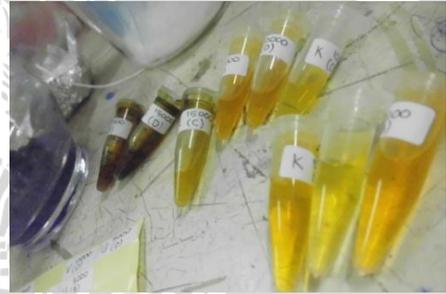
14. Ekstrak heksan yang telah dicampur tetrasiklin



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



22. Hasil zona hambat menggunakan ekstrak heksan *Sargassum* spp

