EKSTRAKSI SENYAWA AKTIF DAGING SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata)* SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli*

SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

Oleh:
AGUS TRI YULIANTO
MIM. 125080600111002

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

EKSTRAKSI SENYAWA AKTIF DAGING SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata)* SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli*

SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

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

Halaman Judul

Oleh:
AGUS TRI YULIANTO
MIM. 125080600111002

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

SKRIPSI

EKSTRAKSI SENYAWA AKTIF DAGING SIPUT BAKAU (*Terebralia sulcata*) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli*

Oleh:
AGUS TRI YULIANTO
MIM. 125080600111002

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 24 Juni 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No:
Tanggal:

Dosen Penguji I

(Defri Yona, S.Pi., M.Sc. Stud., D.Sc)
NIP. 19781229 200312 2 002
Tanggal: 18 JUL 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

(Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D)
NIP. 19740812 200312 2 001
Tanggal: 18 JUL 2016

Dosen Penguji II

(Muliawati S.Pi., M.Si)
NIK. 2013098810052001
Tanggal: 18 JUL 2016

Dosen Pembimbing II

(Dwi Candra Pratiwi, S.Pi., M.Sc)
NIP. 19860115 201504 2 001
Tanggal: 18 JUL 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan PSPK

(Dr. Ir. Daduk Setyohadi, MP)
NIP. 19630608 198703 1 003
Tanggal: 18 JUL 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya bertanggung jawab dan menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis dengan judul "**Ekstraksi Senyawa Aktif Daging Siput Bakau (*Terebralia sulcata)* Sebagai Antibakteri *Escherichia coli***" merupakan benar-benar hasil karya dan pemikiran saya sendiri. Sepanjang penulisan laporan skripsi ini sepengetahuan saya tidak terdapat tulisan, pendapat atau karya orang lain yang pernah diterbitkan oleh instansi atau orang lain kecuali yang tertulis dalam laporan ini dan tercantum dalam daftar pustaka.

Apa bila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Laporan skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya siap dan bersedia menerima segala kosekuensi dan sanksi atas perbuatan tersebut yang sesuai dengan hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 28Juni 2016

Penulis

(Agus Tri Yulianto)

NIM. 125080600111002

UCAPAN TERIMAKASIH

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, oleh karena itu dalam kesempatan yang mulia ini perkenankan penulis untuk menyucapakn rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Allah Subhanahu Wa Ta'ala** atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang memberikan sedikit ilmu kepada penulis sebagai hamba-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bangga dan terimakasih yang dalam penulis persembahkan kepada kedua orangtua **Ibunda Kasem** dan **Ayahanda Sujono** dan saudara kakak Eko TS., Dwi P., dan Adik Aji CP yang penulis sayangi, atas dorongan yang kuat, kebijaksanaan dan do'a.
3. Pemerintah Republik Indonesia dan DIKTI yang memberikan fasilitas beasiswa pendidikan S1 penulis melalui Bidik Misi.
4. Terhormat Ibu **Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS.** selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan semoga Allah memberi keesehatan meridhoi umur beliau.
5. Terhormat Bapak **Dr. Ir. Daduk Setyohadi, MP.** selaku Ketua Jurusan Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan dan Kelautan semoga Allah memberi kemudahan dan kebahagiaan kepada pemimpin yang adil.
6. Terhormat Ibu **Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D** selaku Ketua Prodi Ilmu Kelautan sekaligus Dosen Pembimbing I Ibunda kami Mahasiswa IK 2012 khusunya yang banyak memberikan saran dan masukan yang membangun untuk terciptanya hasil kepenulisan yang baik dan benar, semoga Allah memberikan umur dan kesehatan yang barokah.

7. Terhormat dan Tercinta Ibu **Dwi Candra Pratiwi, S.Pi., M.Sc** sebagai Dosen Pembimbing II sekaligus Kakak yang selalu memberikan masukan, bimbingan, semangat, motivasi, gambaran hidup, yang selalu terus dan terus memberi tantangan kepada penulis untuk melangkah lebih tegas dan maju. Semoga Allah meringankan langkah-langkah kebaikan untuk menebarkan ilmu kepada kami yang tercatat sebagai amal kebaikan, serta doakan penulis suatu saat akan menjadi rekan dan kolega Amin.
8. Terhormat Ibu **Defri Yona, S.Pi., M.Sc. Stud., D.Sc** dan Ibu **Muliawati S.Pi., M.Si** selaku Dosen Penguji**,** semoga diberikan nikmat keimanan, kesehatan dan umur yang bermanfaat oleh Allah hingga dijadikan hamba-NYA yang sesalu bersabar dan bersyukur, Amin.
9. Tercinta, Tersayang dan Terbangga teman-teman Aktivis Dakwah, FOKSI FPIK khususnya PH 2014 dan 2015, payung belajar KAKAP dan sahabat Muslim Negarawan Indonesia, kontrakan Al-Bahri dan Takmir Masjid Bahrul Ulum FPIK serta saudara-saudari Muslim seiman dan maaf penulis tidak mampu menulis satu persatu dari teman-teman. Semoga Allah melapangkan dada kita, meneguhkan kita dalam jalan kebenaran, menjaga ukhuah Islamiyah kita, merekatkan dan menguatkan kita untuk menyampaikan kalimat Tauhid pada seluruh manusia dan menjaga anak keturunan kita pada Agama Islam yang Syumul dan Kaffah. Amin.
10. Tercinta sahabat-sahabat Ilmu Kelautan khususnya Poseidon 2012, kepada Heru H., Kiky W. Rekan penelitian, Nurfarida, Lathifa F., Vani C., NATA, Ade T., Syakanov Dkk. Terimakasih atas pengorbanan waktu membantu terlibat dalam penelitian penulis. Semoga Allah memberikan Poseidon Ilmu Kelautan kesuksesan, kejayaan dunia dan akhirat, Amin.

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

AGUS TRI YULIANTO (125080600111002). Ekstraksi Senyawa Aktif Daging Siput Bakau (*Terebralia sulcata)* Sebagai Antibakteri *Escherichia coli.*

(Dibawah bimbingan **Feni Iranawati, S.Pi., M.Si., Ph.D** dan **Dwi Candra Pratiwi, S.Pi., M.Sc**)

T. sulcata merupakan salah satu komoditi kelautan dan perikanan yang mendominasi di wilayah hutan mangrove dan belum dimanfaatkan secara optimal. Hewan ini hanya sebagian kecil dimanfaatkan masyarakat pesisir sebagai bahan pangan sumber protein hewani dan kerajinan tangan, akan tetapi masyarakat pesisir Riau di Indragiri Hilir telah memanfaatkan *T. sulcata* sebagai obat tradisional antiinfeksi, ini menandakan *T. sulcata* memiliki dibidang farmakologi salah satunya adalah antibakteri. Bakteri patogen yang sering menginfeksi tubuh manusia dan digunakan sebagai uji antibakteri salah satunya adalah bakteri *E. coli.* Kejadian Luar Biasa (KLB) pernah ditetetapkan oleh KEMENKES pada tahun 2011 mengenai wabah bakteri *E. coli* yang menyerang masyarakat di Eropa, dimana hal ini disebabkan wabah penyakit diare pada lebih dari 3.000 orang dan 33 orang diantaranya meninggal dunia. Pengobatan diare yang dilakukan sementara ini adalah dengan penggunaan antibiotik sintetik yang memiliki efek samping menyebabkan resistensi bakteri. Oleh karenanya diperlukan penelitian farmakologi obat alternatif pengganti antibiotik sintetik dengan antibakteri alami salah satunya adalah *T. sulcata*.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2016 dengan pengambilan sampel 9,87 kg *T. sulcata* yang memiliki panjang *apetural* yaitu 4-6 cm di hutan mangrove pantai Clungup, Sendang Biru Kabupaten Malang. Metode penelitian ini melakukan beberapa tahap uji, yaitu ekstraksi sampel *T. sulcata*, uji fitokimia untuk mendapatkan senyawa aktif pada *T. sulcata* dan uji antibakteri terhadap *E. coli*. Uji fitokimia kualitatif dilakukan dengan 6 pengujian yaitu uji alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, steroid, dan terpenoid. Metode eksperimen uji antibakteri menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana perlakuan dibedakan berdasarkan konsentrasi ekstrak dan pengulangan sebanyak 6 kali. Perlakuan ekstrak dalam penelitian ini yaitu A (5000 ppm), B (10.000 ppm), C (15.000 ppm) dan D (20.000 ppm). Kontrol positif menggunakan Amoxcisilin 150 ppm (E) dan kontrol negatif menggunakan akuades steril (F). Data uji aktivitas antibakteri dianalisis secara statistik dengan melakukan perhitungan ANOVA Rancangan Acak Lengkap (RAL) varian tunggal.

Hasil uji fitokimia kualitatif, senyawa aktif yang ditemukan dalam ekstrak kasar daging *T. sulcata* yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, fenol dan terpenoid. Data rerata hasil pengukuran diameter zona bening dalam setiap perlakuan yaitu A. 1,92 mm; B. 2,19 mm; C. 3,02 mm; D. 4,05 mm; E. 14,42 mm; dan F. 0,00 mm termasuk dalam kategori antibakteri lemah. Berdasarkan hasil perhitungan Analisis varian tunggal RAL diketahui bahwa F hitung (119,14) lebih besar dari F Tabel dengan taraf signifikan 1% (3,70) sehingga hipotesis diterima (H1) yaitu ekstrak daging *T. Sulcata* dalam berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap pertubuhan bakteri *E.coli*. Konsentrasi ekstrak terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf signifikasi 1% adalah perlakuan D (konsentrasi 20.000 ppm) namun tidak sebaik kontrol positif. Pengamatan yang dilakukan selama 3x24 jam menunjukan bahwa ekstrak kasar daging *T. sulcata* bersifat sebagai *bakteriostatik* terhadap *E.coli,* hal ini ditandai dengan penurunan diameter zona bening di setiap perlakuan.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kehadirat **Allah Azza Wa Jalla** atas limpahan rahmat, nikmat, dan berkah-NYA atas terselesaikannya laporan skripsi yang berjudul "**Ekstraksi Senyawa Aktif Daging Siput Bakau (*Terebralia sulcata)* Sebagai Antibakteri *Escherichia coli***". Laporan skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang terlibat secara langsung dan tidak langsung dalam membantu penyusunan laporan skripsi ini, atas segala doa, perhatian, dukungan, dedikasi, arahan dan motifasinya. Besar harapan penulis agar laporan skripsi ini menjadi salah satu jendela wawasan keilmuan dibidang perikanan umumnya dan bidang kelautan khususnya.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah mendapat masukan, bimbingan dan arahan dan penulis telah berusaha mengerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasa banyak kekurangan. Oleh karenanya dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan segara kritik dan saran yang membangun agar bentuk karya ilmiah ini bermanfaat bagi pembaca.

Malang, 28 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul ii
Halaman Pengesahan iii
PERNYATAAN ORISINALITAS iv
UCAPAN TERIMAKASIH v
RINGKASAN vii
KATA PENGANTAR viii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
1. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Perumusan Masalah 3
1.3 Tujuan 4
1.4 Kegunaan 4
2. TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Biologi *T. sulcata* 5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi 5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran 6
2.1.3 Siklus Hidup 7
2.1.4 Potensi Senyawa Aktif 8
2.2 Biologi *E. coli* 9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi 9
2.2.2 Habitat dan Penyebaran 10
2.2.3 Siklus Hidup 10
2.2.4 Sifat Patogenesis 11
2.3 Pengaruh Kualitas Air Terhadap Senyawa Aktif *T. sucata* 12
2.3.1 DO (Disslove Oxygen) 12
2.3.2 Salinitas 13
2.3.3 Suhu 13
2.3.4 pH 14
2.4 Aktivitas Antibakteri 15
2.4.1 Uji Antibakteri 15
2.4.2 Mekanisme Antibakteri 16
3. METODOLOGI 17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 17
3.2 Materi Penelitian 17
3.3 Alat dan Bahan 17
3.3.1 Alat 18
3.3.2 Bahan 20
3.4 Metode Penelitian 20
3.4.1 Teknik Pengambilan Data 21
3.4.1.1 Data Primer 21
3.4.1.2 Data Skunder 21
3.5 Desain Penelitian 22
3.6 Alur Kerja Penelitian 23
3.6.1 Pengukuran Parameter Lingkungan 24
3.6.1.1 Pengukuran Suhu 24
3.6.1.2 Pengukuran pH 25

3.6.1.3 Pengukuran DO (*Dessolved Oxygen*) 25
3.6.1.4 Pengukuran Salinitas 26
3.6.2 Pengambilan Sampel *T. sulcata* 26
3.6.3 Sterilisasi Alat dan Bahan 26
3.6.4 Ekstraksi Sampel Daging *T. sulcata* 27
3.6.4.1 Penghalusan dan Pengelolaan Sampel *T. sulcata* 27
3.6.4.2 Ekstraksi Dengan Meserasi Sampel 28
3.6.5 Uji Fitokimia Kualitatif 28
3.6.5.1 Uji Alkaloid 29
3.6.5.2 Uji Saponin 29
3.6.5.3 Uji Steroid 30
3.6.5.4 Uji Terpenoid 30
3.6.5.5 Uji Flavonoid 30
3.6.5.6 Uji Fenol 31
3.6.6 Pembuatan Sampel Uji Pada Kertas Cakram 33
3.6.7 Pembuatan Media Suspensi Bakteri *E. coli* 34
3.6.7.1 Media MHA 34
3.6.7.2 Media MHB 34
3.6.7.3 Larutan Mc Farland 0,5 CFU 34
3.6.7.4 Media Suspensi Bakteri *E. coli* 35
3.6.8 Uji Antibakteri 36
3.7 Analisis Data 37
4. HASIL DAN PEMBAHASAN 38
4.1 Analisis Parameter Lingkungan Penelitian 38
4.1.1 Pengukuran Kuaitas Air 38
4.1.2 Pengaruh Kualitas Air Terhadap *T. sucata* 40
4.2 Ekstraksi Daging *T. sulcata* 41
4.2.1 Ekstrak Daging *T. sulcata* 43
4.2.2 Nilai Rendemen Ekstrak Daging *T. sulcata* 44
4.3 Komponen Senyawa Fitokimia Ekstrak Daging *T. sulcata* 45
4.3.1 Alkaloid 47
4.3.2 Flavonoid 48
4.3.3 Saponin 50
4.3.4 Steroid 51
4.3.5 Terpenoid 52
4.3.6 Fenol 53
4.4 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging *T. sulcata* Pada *E. coli* 55
4.4.1 Hasil Pengukuran Zona Bening 58
4.4.2 Analisis Data 60
4.4.2.1 Konsentrasi Perlakuan Ekstrak dan Kontrol 60
4.4.2.2 Konsentrasi Perlakuan Ekstrak 63
4.4.3 Sifat Antibakteri Ekstrak Daging *T. sulcata* Pada *E. coli* 65
5. PENUTUP 69
5.1 Kesimpulan 69
5.2 Saran 69
DAFTAR PUSTAKA 70
LAMPIRAN 77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. *T. sulcata* 6
Gambar 2. Bakteri *E.coli* 9
Gambar 3. Alur Kerja Penelitian 23
Gambar 4. Hasil Ektraksi Daging *T.sulcata* 44
Gambar 5. Hasil Uji Alkaloid 47
Gambar 6. Hasil Uji Flavonoid 48
Gambar 7. Hasil Uji Saponin 50
Gambar 8. Hasil Uji Steroid 51
Gambar 9. Hasil Uji Terpenoid 52
Gambar 10. Hasil Uji Fenol 53
Gambar 11. Grafik Serapan Skala Standart McFarland (ʎ=600 nm) 56
Gambar 12. Hasil Pengukuran Zona Bening 57
Gambar 13. Grafik Pengukuran Zona Bening 59
Gambar 14. Grafik Tren Zona Bening Ekstrak *T. sulcata* Terhadap *E. coli* 67

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Daftar Alat yang Digunakan 18
Tabel 2. Daftar Bahan Penelitian 20
Tabel 3. Desain Penelitian Antibakteri 22
Tabel 4. Kategori Senyawa Aktif 32
Tabel 5. Kategori dan Standart Warna Fitokimia 33
Tabel 6. Kategori Range Diameter Zona Bening 36
Tabel 7. Data Pengukuran Kualitas Air di Estuari Pantai Clungup 38
Tabel 8. Perhitungan Rendemen ekstrak kasar daging *T. sulcata* 44
Tabel 9. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak kasar *T. sulcata* 46
Tabel 10. Nilai Absorbansi 55
Tabel 11. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat 58
Tabel 12. Data persentase rerata diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli* .. 60
Tabel 13. Data Transformasi Diameter Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli* 61
Tabel 14. Hasil Analisis RAL Pengukuran Diameter Zona Bening 62
Tabel 15. Analisis Hasil Perhitungan BNT 1% 63
Tabel 16. Hasil Pengukuran Zona Bening Pada Konsentrasi Ekstrak 64
Tabel 17. Hasil Analisis RAL Pengukuran Diameter Zona Bening Ekstrak 64
Tabel 18. Analisis Hasil Perhitungan BNT 1% 65
Tabel 19. Data Pengukuran Diameter Zona Bening Hari ke- 1, 2 dan 3 66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Peta Lokasi Penelitian 77
Lampiran 2. Baku Mutu Air Laut Untuk Biota Laut 78
Lampiran 3. Nilai Rendemen Ekstrak Kasar *T. sulcata* 79
Lampiran 4. Rasio Pembuatan Larutan Mc Farland 80
Lampiran 5. Hasil Pengukuran Absorbansi dan Regresi Standart Mc Farland ... 81
Lampiran 6. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening 82
Lampiran 7. Fase Pertumbuhan Bakteri 83
Lampiran 8. Dokumentasi Pengambilan Sampel Di Pantai Clungup 84
Lampiran 9. Dokumentasi Preparasi Sampel 84
Lampiran 10. Dokumentasi Ekstraksi Sampel 84
Lampiran 11. Dokumentasi Uji Fitokimia 84
Lampiran 12. Dokumentasi Uji Antibakteri 84
Lampiran 13. Dokumentasi Pengamatan Zona Bening 84

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

T. sulcata merupakan kelompok hewan kelas gastropoda yang mendominasi ekosistem hutan mangrove di sebagian besar wilayah Asia Tenggara (Barnes, 2003). Hewan ini memiliki tingkat adaptasi yang baik untuk bertahan hidup di berbagai tempat dan cuaca, sehingga memiliki kelimpahan yang tinggi terutama di wilayah pesisir Indonesia. *T. sulcata* merupakan salah satu komoditi kelautan dan perikanan yang belum dimanfaatkan secara optimal. Hewan ini hanya sebagian kecil dimanfaatkan masyarakat pesisir sebagai bahan pangan sumber protein hewani dan kerajinan tangan (Sumarto *et al*., 2011). Masyarakat pesisir Riau di Indragiri Hilir juga memanfaatkan *T. sulcata* sebagai obat tradisional antiinfeksi seperti luka bakar, sakit gigi, penyakit TBC dan infeksi usus buntu (Ali, 2006), ini menandakan hasil sumberdaya perikanan dan kelautan memiliki potensi dibidang farmakologi.

Hasil penelitian sumberdaya perikanan dan kelautan menunjukkan tidak kurang dari 25% kandungan senyawa aktif telah teridentifikasi dari 675 spesies biota laut (Prozanto *et al*., 1999). Data Nasional Cancer Institute (Washington), yang telah melakukan penelitian dan skrining menyatakan bahwa beberapa biota laut memiliki aktivitas biologis sebagai senyawa aktif. Lebih dari 20 kategori senyawa aktif yang berbeda-beda telah ditemukan, seperti antivirus, antibakteri atau antibiotik, antileukimia, antiinflamasi, antihelmentik, insektisidal, sitotoksin, dan antikanker (Burrens dan Clement, 1993). Biota laut yang memiliki potensi aktivitas biologis dan memiliki senyawa aktif salah satunya adalah *T. sulcata* (Ali, 2006). Menurut Sumaerto *et al*. (2011), senyawa-senyawa yang dihasilkan dari *T.*

sulcata antara lain alkaloid, flavonoid, dan saponin yang bersifat nonpolar, kandungan senyawa aktif ini memiliki potensi sebagai antibakteri (Rijayanti *et al*., 2014).

Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen atau bersifat merugikan (Berniyanti dan Swarno, 2007). Senyawa antibakteri ini meliputi alkaloid, saponin, flavonoid (Sumarto *et al*., 2011), triterpenoid, terpenoid (Gunawan *et al*., 2008) dan senyawa golongan etanol lainnya. Mekanisme kerja senyawa antibakteri yaitu dengan merusak organel sel seperti perusakan dinding sel, penghambatan sintesis asam nukleat dan membran sel serta mendenaturasi dan memprepitasi protein sel bakteri (Rijayanti *et al*., 2014), sehingga bakteri patogen tidak mampu melakukan metabolisme (Sarip *et al*., 2014) dan pembelahan sel (Pelczar dan Chan, 2008). Bakteri patogen yang sering ditemukan menginfeksi tubuh manusia dan digunakan sebagai uji antibakteri salah satunya adalah bakteri *E. coli* (Rahmawati *et al*., 2014).

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang bersifat *heterotrof* dan berbentuk batang pendek. Bakteri ini termasuk anggota flora normal usus yang berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan (Kusuma, 2010). Bakteri *E. coli* hidup di usus besar manusia yang membantu proses pembusukan dan pencernaan makanan (Winarni dan Dinarjati, 2011), akan tetapi bakteri ini akan berubah menjadi patogen jika jumlah bakteri dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus (Kusuma, 2010). Bakteri *E. coli* mampu menyebabkan infeksi dan penyakit pada manusia seperti Infeksi saluran kemih, diare, sepsis, dan meningitis. Kejadian Luar Biasa (KLB) pernah ditetetapkan oleh KEMENKES pada tahun 2011 mengenai wabah bakteri *E. coli* yang menyerang masyarakat di Eropa (Antara, 2011). *E. coli* diberitakan

menyebabkan penyakit diare pada lebih dari 3.000 orang di 14 negara di Eropa dan mengakibatkan tidak kurang dari 33 orang meninggal dunia (Dewanti dan Hariyadi, 2011). Pengobatan diare yang dilakukan sementara ini adalah dengan penggunaan antibiotik sintetik yang diproduksi oleh industri obat-obatan yang tergolong mahal (Rahmawati *et al*., 2014).

Penggunaan antibiotik sintetik memiliki efek samping yang dapat menyebabkan resistensi terhadap bakteri apabila penggunaanya tidak tepat sesuai dengan dosis (Rahmawati *et al*., 2014). Resistensi bakteri didefinisikan sebagai ketidak mampuan antibiotik menghambat pertumbuhan bakteri secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. Resisitensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektifitas obat atau senyawa kimia sebagai antibiotik atau antiinfeksi (Bari *et al.*, 2008). Akibat resistensi dari pengobatan antibiotik lini pertama, maka harus digunakan antibiotik lini kedua atau lini ketiga yang memiliki dosis lebih tinggi dan lebih toksik (Utami, 2012). Dengan kata lain penggunaan antibiotik sintetik memiliki efek negatif bagi inang dan bakteri infektor. Oleh karenanya diperlukan penelitian farmakologi obat alternatif pengganti antibiotik sintetik dengan antibakteri alami yang tersedia di alam, salah satunya adalah *T. sulcata.*

1.2 Perumusan Masalah

T. sulcata merupakan biota yang banyak ditemukan di wilayah pesisir hutan bakau. Hewan ini merupakan salah satu komoditi perikanan dan kelautan yang belum dimanfaatkan secara optimal. Menurut penelitian yang pernah dilakukan biota laut memiliki aktivitas biologi yang menghasilkan senyawa aktif salah satunya sebagai antibakteri. Oleh karenanya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait potensi antibakteri dari *T. sulcata* . Adapun perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut,

1. Apakah susunan senyawa aktif yang terdapat pada daging *T. sulcata* ?
2. Bagaimana potensi dan sifat senyawa aktif yang dimiliki *T. sulcata* sebagai antibakteri *E. coli* ?
3. Berapa konsentrasi terbaik ekstrak kasar daging *T. sulcata* menghambat pertumbuhan *E. coli* ?

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakannya penelitian aktivias antibakteri ekstrak daging *T. sulcata* pada *E. coli* adalah untuk mengetahui:

1. Senyawa aktif yang terdapat pada daging *T. sulcata*.
2. Potensi dan sifat senyawa aktif *T. sulcata* sebagai antibakteri *E. coli.*
3. Konsentrasi terbaik ekstrak kasar daging *T. sulcata* sebagai antibakteri *E. coli.*

1.4 Kegunaan

Kegunaan dilakukannya penelitian aktivias antibakteri ekstrak daging *T. sulcata* pada *E. coli* sebagai berikut,

1. Diharapkan sebagai obat alternatif antibakteri alami dari *T. sulcata* yang relatif ekonomis dan berdaya kerja luas dan aman.
2. Meningkatkan nilai ekonomi sumberdaya perikanan dan kelautan dibidang farmakologi sebagai antibakteri.
3. Meningkatkan taraf hidup masyarakat pesisir, dengan potensi biota laut seperti *T. sulcata* sebagai sumber senyawa aktif.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *T. sulcata*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Houbrick (1991), distribusi *T. sulcata* ditemukan di sepanjang pasifik barat dari selat Ryukyus sampai Taiwan, Vietnam, China, dan sepanjang pesisir Filipina. *T. sulcata* dewasa memiliki cangkang yang keras berukuran sedang, berbentuk *pendant*, dan memiliki ukuran 40-60 mm. *T. sulcata* merupakan kelompok hewan kelas Gastropoda yang banyak ditemukan mendominasi di wilayah hutan bakau (Barnes, 2003). Kata gastropoda berasal dari Bahasa Yunani, “Gastro” yang berarti perut dan “Poda” yang berarti kaki. Menurut Chian (2016), klasifikasi *T. sulcata* dan morfologinya dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini.

Kingdom: Animalia
Phylum: Mollusca
Class: Gastropoda
Order: Sorbeoconcha
Family: Potamididae
Genus: Terebralia
Species: *T. sulcata*

Gambar 1. *T. sulcata*

Sumber: Sumarto *et al*, 2011

T. sulcata dikenal dengan hewan yang memiliki cangkang keras yang berbentuk menyerupai terompet (Sumarto *et al.,* 2011). Cangkang *T. sulcata* menutupi seluruh bagian tubuh dari kepala, badan, dan alat gerak. Cangkang tersusun dari dua lapisan yang sebagian besar terbentuk dari bahan kalsium karbonat, lapisan luar dilapisi periostrakum dan zat tanduk (Pape *et al.*, 2008). Cangkang Gastropoda yang berputar ke arah belakang searah dengan jarum jam disebut dekstral, sebaliknya bila cangkang berputar berlawanan arah dengan jarum jam disebut sinistral (Salgeback dan Enrico, 2006). *T. sulcata* dewasa memiliki panjang *apertural* mencapai 4,4 cm dengan diameter *inhalant siphonal canal* 1,5 cm. Pada fase ini *T. sulcata* dewasa mampu melakukan reproduksi yang ditandai dengan matangnya gonad secara sempurna (Peter dan Sivanothi, 2001).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Sebaran komponen-komponen gastropoda dibedakan menjadi tiga berdasarkan tempat siklus hidupnya. Gastropoda yang hidup di dasar substrat atau dalam tanah disebut *infauna*, sedangkan yang dipermukaan sedimen atau tanah disebut *epifauna*, dan yang hidup menempel pada pohon, akar, dan daun disebut *treefuna*. Genus terebralia merupakan hewan invertebrata mangal Indo-

Pasifik yang sering disebut sebagai lumpur menjalar. Terebralia banyak ditemukan mendominasi di wilayah lumpur hutan mangrove (Pape *et al*, 2008). Menurut penelitian yang dilakukan Ayunda (2011), di pulau Pari, *Terebralia* merupakan gastropoda dengan kepadatan tertinggi, yaitu 31,6 ind/m^2 di wilayah hutan mangrove.

Ekosistem mangrove merupakan habitat yang mendukung bagi kehidupan fauna yang terdapat di dalamnya karena mangrove yang lebat menyediakan mikrohabitat bagi gastropoda (Salgeback dan Enrico, 2006). Salah satu spesies dari kelas gastropoda adalah *T. sulcata* yang banyak ditemukan menghabiskan hidup di substrat berlumpur pada hutan mangrove. Hewan ini pada umumnya bergerak aktif naik turun mengikuti pasang surut air laut sehingga memiliki adaptasi yang cukup besar dalam perubahan suhu dan salinitas lingkungan (Sumarto *et al*., 2011).

2.1.3 Siklus Hidup

Kelompok kelas gastropoda berasosiasi dengan ekosistem hutan mangrove sebagai habitat tempat hidup, berlindung, memijah, dan juga sebagai daerah suplai makanan yang menunjang kelangsungan hidup *T. sulcata.* Siklus hidup *T. sulcata* di lingkungan hutan mangrove dibedakan menjadi dua fase, yaitu fase juvenil dan dewasa. Pada fase juvenil terebrasia melakukan berbagai aktivitas di zona yang memiliki sirkulasi air yang cukup, seperti sungai dan wilayah pasang surut di tepi pantai. Setelah menghabiskan fase juvenil maka *T. sulcata* dewasa akan kembali ke wilayah hutan mangrove untuk menetap baik sebagai *infauna*, *epifauna*, dan *treefauna* (Pape *et al*, 2008).

Menurut Salgeback dan Enrico (2006), kebanyakan gastropoda memiliki kelamin terpisah, sehingga tiap individu adalah dioseus dengan satu gonad (ovari atau testis) yang terletak dekat apex. Penelitian mengenai reproduksi dari terebrasia masih sangat jarang dilakukan terutama di wilayah tropis dan

subtropis. *Terebralia* akan melakukan reproduksi pada fase dewasa di wilayah hutan mangrove. Pemijahan sel telur akan ditempelkan pada batang mangrove yang masih teredam air laut akibat pasang surut, hingga sel telur menetas dan memasuki fase juvenil.

2.1.4 Potensi Senyawa Aktif

Hasil penelitian sumberdaya perikanan dan kelautan menunjukkan tidak kurang dari 25% kandungan senyawa aktif telah teridentifikasi dari 675 spesies biota laut (Prozanto *et al*., 1999). Secara umum perhatian tentang penelitian senyawa aktif pada biota laut terfokus pada spons laut, namun beberapa biota laut seperti *T. sulcata* dimungkinan memiliki potensi dalam bidang farmakologis (Sumarto *et al*., 2011). Pemanfaatan *T. sulcata* sebagai obat tradisional seperti antiinfeksi pada luka bakar telah dilakukan oleh masyarakat pesisir Indragiri Hilir, Riau secara turun-temurun. Hal ini menandakan bahwa *T. sulcata* memiliki potensi dibidang farmakologi (Ali, 2006).

Data *Nasional Cancer Institute* (Washington) menyatakan bahwa hasil penelitian dan skrining pada beberapa biota laut menunjukkan adanya aktivitas biologis yang menghasilkan senyawa aktif. Senyawa aktif yang ditemukan pada biota laut memiliki keragaman lebih dari 20 kategori yang berbeda-beda, seperti antivirus, antibiotik, antiinflamasi, antileukimia, insektisidal, sitoksin, antihelmentik, dan antikanker (Burrens dan Clement, 1993). Menurut penelitian Sumarto *et al*. (2011), salah satu biota laut yaitu *T. sulcata* memiliki senyawa aktif berupa alkaloid, saponin dan flavonoid yang bersifat nonpolar. Senyawa aktif flavonoid merupakan salah satu senyawa antimikroba, dimana senyawa ini mampu menghambat metabolisme dan sintesis asam nukleat sel bakteri patogen (Rijayanti *et al*., 2014).

2.2 Biologi *E. coli*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang bersifat *heterotrof* dan berbentuk batang pendek. Bakteri (Gambar 2) ini termasuk anggota flora normal usus yang berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan (Kusuma, 2010). Menurut Yingst *et al*. (2006), klasifikasi bakteri *E. coli* seperti Gambar 2 di bawah ini.

Domain: Bacteria

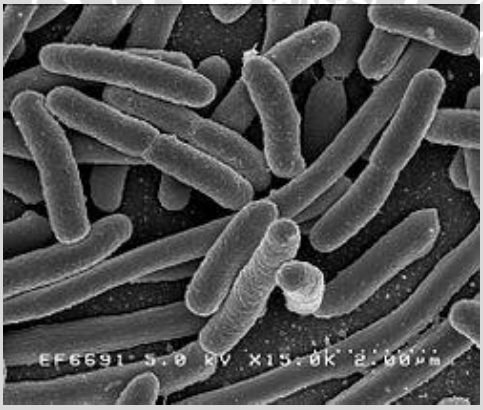
Phylum: Proteobacteria

Order: Enterobacteriales

Family: Enterobacteriaceae

Genus: Eschericha

Spesies: *E. coli*



Gambar 2. Bakteri *E.coli*

Sumber: Antara, 2011

E. coli umumnya merupakan bakteri yang banyak ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan akan berubah menjadi patogen jika berada di luar usus. Bakteri ini berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm, lebar 0,4-0,7µm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli*

membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Winarni dan Dinarjati, 2011).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

E. coli merupakan bakteri yang banyak ditemukan pada saluran pencernaan manusia. Sebagai bakteri yang bersifat anerob fakultatif atau mikroorganisme yang tidak memerlukan oksigen atmosfer, namun tumbuh lebih baik dalam lingkungannya, sehingga bakteri ini juga ditemukan dalam air dan tanah. Terdeteksinya keberadaan *E. coli* pada air dan tanah menunjukkan pencemaran lingkungan yang berasal dari tinja manusia (Radji *et al*., 2010).

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang berada di usus besar manusia yang membantu proses pembusukan dan pencernaan makanan. Kasus terjadinya infeksi bakteri ini biasanya disebabkan oleh pencemaran dan sanitasi yang kurang baik di dalam air yang digunakan. Bakteri ini banyak ditemukan pada sumber air di wilayah pemukiman kumuh dan padat penduduk. Salah satu kasus pencemaran sumur oleh bakteri *E. coli* adalah di wilayah Kota Yogyakarta dimana 70% sumur di wilayah tersebut terkontaminasi bakteri (Winarni dan Dinarjati, 2011).

2.2.3 Siklus Hidup

Sebagai bakteri yang bersifat anerob fakultatif, maka *E. coli* dapat tumbuh dibeberapa media seperti air tawar, payau, laut, tanah, dan di dalam usus manusia. Seperti halnya bakteri lainnya, siklus hidup *E. coli* sangat dipengarui oleh keadaan lingkungan, baik media dan nutrisi. *E. coli* melakukan reproduksi dengan cara membelah menjadi dua yang saling terpisah sehingga membentuk sel-sel tunggal, dimana pada beberapa generasi sel-sel membelah searah dan tidak saling terpisah yang membentuk filamen yang terbentuk atas deretan mata rantai sel yang disebut dengan *trikom*. *Heterokist* dapat mengikat nitrogen bebas yang memiliki dinding transparan yang membentuk penebalan dinding sel

vegetatif. Sedangkan *akinet* terbentuk dari penebalan vegetatif yang penuh dengan cadangan makanan atau granula cyanophycin (Adji, 2008).

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri prokariotik yang banyak digunakan sebagai indikator pencemaran biologi lingkungan perairan. Bakteri ini hidup sebagai patogen bagi organisme lain baik manusia ataupun hewan. Bakteri *E. coli* menular dikarenakan tingkat kebersihan dan sanitasi perairan yang rendah. Bakteri ini dapat tumbuh pada media biotik dan abiotik dan bereproduksi dengan pembelahan biner secara melintang. Sel induk bakteri mengalami pemanjangan sel yang akhirnya mengalami invaginasi dinding sel (sektum) dan terjadinya distribusi dua arah material nukleus. Terbentuknya dinding sel diikuti dengan penyebaran terorganisasi bahan nukleus kedalam dua sel. Pemisahan menjadi dua sel baru dengan muatan materi yang sama terjadi secara terus menerus hingga proses pembelahan biner selesai (Pelczar dan Chan, 2008).

2.2.4 Sifat Patogenesis

Sifat patogen *E. coli* bakteri terjadi ketika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus halus. Bakteri ini mampu berasosiasi dengan *enteropatogenik* yang menghasilkan *enterotoksin* penyebab penyakit diare pada manusia. Selain itu menyebabkan penyakit miningitis atau radang selaput otak pada bayi sekitar 40% kasus disebabkan oleh infeksi bakteri *E. coli* (Kusuma, 2010).

Bakteri *E. coli* selain bersifat patogen terhadap manusia, bakteri ini juga menyebabkan infeksi penyakit pada hewan peliharaan dan ternak. Infeksi supuratif yang terjadi pada hewan ternak seperti sapi dan kambing menyebabkan terjadinya penyakit mastitis dan penyakit pioderma pada kucing dan anjing. Pada babi, *E. coli* yang tergolong dalam *haemolitik strain* merupakan penyebab penyakit Oedema yang ditunjukkan dengan adanya penebalan dinding lambung dan saluran pencernaan (Hermawan, 2007).

2.3 Pengaruh Kualitas Air Terhadap Senyawa Aktif *T. sucata*

2.3.1 DO (Disslove Oxygen)

DO merupakan komponen yang penting dalam kualitas perairan, dimana menurut Rand dan Petrocelli (1985), kelimpahan organisme perairan sangat dipengarui oleh keadaan oksigen terlarut, salah satunya adalah mikroalga. Mikroalga merupakan komponen dasar dalam rantai makanan di lingkungan laut (Nattasya, 2009), dimana salah satunya adalah sebagai sumber makanan utama dari *T. sulcata* (Lopes *et al*., 2009). Organisme ini menyimpan energi selama fotosintesis dan berguna sebagai produsen dalam jaring-jaring makanan. Mikroalga memiliki kandungan senyawa metabolit yang khas dan kompleks seperti karotenoid, antioksidan, asam lemak, enzim, polimer, peptida, toksin, dan sterol (Sushkova *et al*., 2015) yang berpotensi sebagai antibakteri, sehingga kandungan tersebut diduga terakumulasi pada *T. sulcata*.

DO merupakan komponen terpenting dalam ekosistem perairan, dimana DO memiliki peran yang sangat vital bagi organisme aerob. Keberadaan DO dalam perairan mempengarui kelangsungan hidup organisme bawah air. Proses pembentukan energi oleh biota laut seperti *T. sulcata* adalah dengan melakukan pembakaran yang melibatkan oksigen dan bahan makanan. Proses metabolisme ini dipengarui oleh DO dan suhu perairan. DO dalam pembentukan senyawa metabolit sekunder digunakan sebagai katalisator untuk mengurai rantai makanan dari senyawa komplek menjadi senyawa gula sederhana. Senyawa gula ini meliputi sukrosa, glukosa, galaktosa, dan laktosa yang memiliki peran dalam pembentukan senyawa aktif fitokimia. Kenaikan suhu dan pembakaran oleh oksigen akan memicu penguraian sukrosa yang berlebih yang berakibat pada biosintesis antosianin dan alkaloid indol. Hasil biosintesis ini akan mempertahankan gugus pekat ikatan cincin senyawa komplek polyfenol untuk menstabilkan metabolisme sel (Carew dan Krueger, 1977).

2.3.2 Salinitas

Salinitas sebagai salah satu parameter kualitas air yang berpengaruh secara langsung terhadap metabolisme biota laut (Yurisma et al., 2013). Pengaruh salinitas perairan terhadap produksi senyawa metabolit sekunder biota laut seperti T. sulcata memiliki rantai hubungan yang jauh. Dimana reaksi biologi pembentuakn senyawa metabolit sekunder dipengarui oleh beberapa rantai gugus garam. Rantai garam dari gugus akil sulfonat berikatan dengan golongan basa bernitrogen yang membentuk ikatan cincin hitrosiklik. Ikatan ion ini akan memutus rantai pembentukan senyawa aktif golongan surfaktan anionik (Knobloch dan Berlin, 1983).

Perubahan salinitas perairan akan berdampak pada laju metabolisme tubuh, baik pembentukan senyawa metabolit primer atau metabolit sekunder. Peningkatan atau penurunan salinitas akan berdampak pada kemampuan osmoregulasi tubuh (Karim, 2008) seperti T. sulcata. Keadaan lingkungan yang kurang mendukung mendukung seperti peningkatan salinitas dan kurangnya ketersediaan oksigen akan berdampak pada fase stress dari biota perairan. Hal ini akan meningkatkan sistem pencernaan dalam sel, dimana pada fase ini tubuh memanfaatkan basa sukrosa dari rantai karbohidrat sebesar 3% untuk melakukan biosintesis metabolit sekunder yang diproduksi oleh sel heterotropik untuk bertahan hidup (Dicosmo dan Towers, 1984).

2.3.3 Suhu

Pengaruh suhu terhadap pembentukan senyawa aktif metabolit sekunder terjadi pada reasksi enzimatik biota laut. Menurut Nuniek (2006), aktivitas enzim dipengarui oleh suhu, dimana pada suhu 55 ^{o}C fungsi kerja enzim akan menurun. Hal ini disebabkan oleh komponen struktur pembentuk enzim, yaitu protein. Peningkatan nilai suhu ini akan mengakibatkan denaturasi protein sehingga enzim pembentuk metabolit sekunder rusak dan aktivitasnya menurun.

Suhu merupakan factor utama dalam aktivitas enzim yang menghasilkan metabolit sekunder. Pada keadaan suhu yang tinggi 40^{o}C maka akan memacu peningkatan kerja enzim, akan tetapi pada keadaan suhu rendah <5^{o}C dapat menghentikan aktivitas enzim tanpa merusaknya. Perubahan suhu perairan akan berakibat pada terganggunya proses induksi enzim dalam biosintesis metrabolit sekunder. Senyawa triptofan hasil biosintesis akan melakukan induksi sintesis enzim yang dibutuhkan untuik memproduksi senyawa alkaloid (Nofiani 2008).

2.3.4 pH

pH merupakan salah satu hal penting dalam menentukan kualitas air suatu perairan. Kondisi perairan yang bersifat asam maupun basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme dan respirasi (Rukminasari *et al*., 2014). Nilai parameter pH sangat mempengarui proses biokimia perairan seperti pembentukan enzym kimia pertumbuhan oleh biota laut seperti *Halimida sp.* Beberapa enzim ini mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Effendi, 2003) diantaranya adalah senyawa aktif fitokimia alkaloid, Flavonoid, dan Tanin (Astuti, 2015).

Derajat keasaman (pH) suatu perairan sangat mempengarui aktivitas metabolisme biota perairan, salah satunya adalah *T. sulcata*. Metabolisme disebut juga sebagai reaksi enzimatis, karena terbentuknya senyawa metabilit primer dan sekunder menggunakan katalisator enzim (Nuniek, 2006). Kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu reaksi sangat dipengarui oleh pH. Hal ini disebakan karena konsentrasi ion hydrogen mempengarui struktur enzim dan aktivitasnya. Perubahan nilai pH perairan akan berdampak pada terganggunya pembentukan senyawa aktif metabolit sekunder. Hal ini dikarenakan aktivitas enzim secara progresif hilang sampai pada ahirnya enzim tidak mampu melakukan peran fungsional sebagai pembentuk senyawa aktif. Keadaan ini

akan berakibat pada terbentuknya senyawa lain non-senyawa aktif seperti asam amino yang yang tidak mampu dikatalisasi dengan mempertahankan struktur tersier dan kuartener enzym aktifnya (Yusriah *et al.,* 2013).

2.4 Aktivitas Antibakteri

2.4.1 Uji Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen atau bersifat merugikan (Berniyanti dan Swarno, 2007). Zat antibakteri ini memiliki potensi sebagai obat untuk menghambat atau membunuh bakteri patogen pada manusia. Senyawa antibakteri ini meliputi flavonoid, saponin, alkaloid (Sumarto *et al*., 2011), triterpenoid, terpenoid (Gunawan *et al*., 2008) dan senyawa golongan etanol lainnya. Pengujian adanya aktivitas antibakteri suatu senyawa, biasanya ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media suspensi bakteri patogen (Sarip *et al*., 2014).

Uji antibakteri merupakan suatu metode untuk mendeteksi kemampuan suatu senyawa terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Pengujian ini digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan bakteri merupakan salah satu usaha untuk mencegah penyebaran penyakit melalui infeksi dan pembusukan serta perusakan bahan oleh bakteri patogen. Teknik pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme yang ditandai dengan zona bening pada media uji (Rahmawati *et al*., 2014).

2.4.2 Mekanisme Antibakteri

Mekanisme penghambatan atau pembunuhan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa aktif antibakteri adalah dengan perusakan organel sel dalam metabolisme dan reproduksi bakteri. Senyawa antibakteri dapat merusak dinding sel dengan cara menghambat perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel. Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Rijayanti *et al*., 2014).

Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu penghambatan sintesis dinding sel, sintesis protein, sintesis asam nukleat, perusakan keutuhan dinding sel, dan asam nukleat sel bakteri. Uji mekanisme antibakteri dapat dilihat pada rentang waktu pengujian, dimana jika luas zona bening berbanding lurus dengan waktu maka bersifat *bakterisid* (membunuh), sedangkan jika sebaliknya bersifat *bakteriostatik* (menghambat). Mekanisme antibakteri dari senyawa aktif pada ahirnya membuat bakteri tidak mampu melakukan metabolisme (Sarip *et al*., 2014) dan pembelahan sel (Pelczar dan Chan, 2008).

3. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu dan tempat dilaksakannya penelitian ekstraksi senyawa aktif daging *T. sulcata* sebagai antibakteri *E. coli* dilaksanakan pada dua tempat yang berbeda yaitu di lapang dan laboratorium. Penelitian lapang untuk pengambilan sampel T. sulcata dilaksanakan pada 27 Februari 2016 di wilayah hutan mangrove pantai Clungup, Sendang Biru, Kabupaten Malang dengan titik koordinat 112,67 BB dan 8,43 LS. Penelitian skala laboratorium dilaksanakan mulai 24 Februari- 27 Maret 2016 di laboratorium Biologi FMIPA Univ. Negeri Malang.

3.2 Materi Penelitian

Penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daging *T. sulcata* pada *E. coli* dilakukan dengan mengamati terbentuknya zona bening pada media suspensi bakteri. Terbentuknya zona bening pada media menandakan bahwa bahan senyawa uji memiliki potensi sebagai antibakteri. Mekanisme terhambat atau terbunuhnya bakteri dalam uji antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu penghambatan sintesis dinding sel, sintesis protein, sintesis asam nukleat, perusakan keutuhan dinding sel, dan asam nukleat sel bakteri (Pelczar dan Chan, 2008).

3.3 Alat dan Bahan

Metode pengujian aktivitas antibakteri adalah salah satu metode eksperimen yang dilakukan di rungan labolatorium. Metode ini memiliki beberapa tahapan dalam berbagai uji yang digunakan, sehingga membuhtukan alat dan

bahan yang berbeda. Alat dan bahan yang digunakan untuk menunjang kinerja penelitian uji aktivitas antibakteri antara lain:

3.3.1 Alat

Alat beserta fungsi yang digunakan dalam penelitian ekstraksi senyawa aktif daging *T. sulcata* sebagai antibakteri *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Daftar Alat yang Digunakan

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	Botol sampel steril	0-100 ml	Menyimpan sampel hasil ekstrak
2	*Cool box*	Sterroform 20 L	Menyimpan dari lapang hingga laboratorium
3	Kamera digital	Akurasi 12 MP	Mendokumentasikan kegiatan sampling
4	*Autoclave*	LSB 35 L	Mensterilisasi alat dan medium
5	*Water bath*	HH-6 L	Mennginkubasi media pada suhu yang ditentukan dimana sampel basah.
6	*Vortex mixer*	Kecepatan 0-300 rpm	Menghomogenkan suspense pada awal kultivasi
7	Timbangan digital	Ketelitian 10^{-2}	Menimbang bahan dengan ketelitian 10^{-2}
8	Panci	Volume 6 L	Merebus media untuk pertumbuhan bakteri
9	*Laminar flow*	Dimensi 1000x800x1250 mm	Ruang kerja aseptis dalam isolasi bakteri
10	Kompor	-	Sumber panas skala besar
11	Inkubator	Inkubasi 4-100 ^{o}C	Menginkubasi media padat pada suhu yang ditentukan
12	*Hot plate*	Suhu 10-400 ^{o}C	Memanaskan dan menghomogenkan medium agar
13	Etalase bakteri	-	Menyimpan media bakteri
14	Spatula	-	Mengaduk larutan untuk menghomogenkan
15	Rak tabung reaksi	-	Menaruh tabung reaksi
16	*Washing bottle*	Volume 1000 ml	Tempat aquades
17	*Triangle*	-	Meratakan suspense bakteri
18	Tabung reaksi	Volume 250 ml	Mewadahi saat pengenceran atau pembiakan dalam media agar miring
19	*Sprayer*	Kapasitas100 ml	Mengondisikan aseptik
20	Pinset	-	Mengambil benda ukuran kecil

Tabel 1. Lanjutan

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
21	Sendok bahan	-	Mengambil bahan dalam bentuk serebuk
22	Pipet volume	Volume 1-10 ml	Mengambil larutan dalam skala 1-10 ml
23	Pipet tetes	Diameter 5 mm.	Mengambil larutan dalam skala kecil
24	Pipet serologis	-	Mengambil larutan dalam skala 0,1-1 ml
25	Nampan	-	Menaruh alat dan bahan
26	*Crushabletank*	-	Mengambil benda panas
27	Kaca arloji	Ketelitian 10-2	Menaruh bahan yang akan ditimbang
28	Jarum ose	-	Memindahkan biakan mikroorganisme dalam proses kultivasi
29	Gelas ukur	0-100 ml	Mengukur volume larutan
30	Labu Erlenmayer	Volume 0-250 ml	Menempatkan media kultivasi (agar) dan tempat kultivasi cair
31	Gunting	-	Menggunting bahan
32	*Cotton swab*	Tube 12 x 150 Millipore.	Mengisolasi bakteri pada metode cawan gores
33	Corong	-	Memudahkan menuang larutan
34	Cawan petri	-	Membiakan (kultivasi) bakteri
35	Bunsen	-	Mengaseptis ruang kerja
36	Bola hisap	-	Membantu pipet volume untuk mengambil larutan
37	*Vacum Rotari Evaporator*	-	Evaporai bahan dengan suhu dan putaran
38	Pisau	-	Memotong daging dan bahan lainnya
39	DO-meter	PDO-519 (0-20.0 mg/L)	Mengukur oksigen terlarut perairan
40	Thermometer	Suhu 0-100 ^{o}C	Mengukur suhu
41	pH-meter	Keasaman 0-14	Mengukur PH larutan
42	Refraktometer	Akurasi 12-27%	Mengukursalinitas perairan
43	Spektofotometer	Spec 1nm (190 to 900 nm)	Mendeteksi adanya senyawa pada suatu larutan atau ekstrkasi
44	Martil	-	Memecah angkangsiput
45	Laptop	Vision AMD	Menjalankan program Ms. Exel
46	Ms. Exel	-	Menghitung nilai uji F dengan regresi dan RAL

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian uji aktivitas antibakteri adalah isolat bakteri *E. coli* dan *T. sulcata* yang diperoleh dari pesisir pantai selatan Kabupaten Malang. Serta Bahan-bahan lainnya yang digunakan saat di lapang dan di laboratorium dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Daftar Bahan Penelitian

No.	Bahan	Jumlah yang Digunakan	Fungsi
1	*T. sulcata*	250 g	Menjadi sampel penelitian
2	Metanol p.a	1,5 L	Mengekstraksi senyawa aktif
3	Amoniak & Cloroform	5 ml	Memeserasi bahan pada uji fitokimia
4	Pereaksi mayer,	5 ml	Menguji perubahan warna untuk menentukan adanya alkaloid
5	$H_2SO_4$2N	5 ml	Memisahkan asm fosfat dengan Cloroform
6	Aquadest	3 L	Menghomogenkan larutan pada pembuatan media NA, TSA, dan NC.
7	Mc Farland	10 ml	Mengukur perbandingan kepadatan bakteri
8	MHA (Muller Hilten Agar)	7 g	Membuat media MHA untuk peremajaan bakteri *E. coli*
9	MHB (Muller Hilten Broth)	5 g	Membuat media MHB untuk disuspensi dengan bakteri *E. coli*
10	Alkohol 70%	100 ml	Pengisi sprayer & Pengkondisian aseptis
11	Kertas Cakram	50 pcs	Menguji adanya aktivitas antibakteri pada media suspensi
12	Kertas label	1 lembar	Menandai sampel agar memudahkan pelaksanaan penelitian
13	Kertas Koran	15 lembar	Membungkus alat yang disterilisasi
14	Air	10 L	Media yang ditaruh di autoklaf untuk sterilisasi basah
15	Spirtus	50 ml	Bahan bakar Bunsen
16	Tali	1 pcs	Mengikat alat pada sampel agar memiliki posisi yang tetap saat disterilisasi dengan autoclave atau oven
17	Kapas	1 pack	Menutup tabung reaksi, labu erlenmayer, pipet serologis
18	Tisu	1 pack	Mengeringkan alat yang sudah dicuci

3.4 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah metode eksperimen (percobaan). Peneliti memanipulasi variabel berdasarkan

perbedaan konsentrasi dari senyawa uji. Metode eksperimen ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana perlakuan dibedakan berdasarkan konsentrasi senyawa aktif dan pengulangan sebanyak enam kali. RAL digunakan untuk menentukan perlakuan dan pengulangan suatu uji dengan tujuan memperkuat hasil eksperimen. Suatu eksperimen akan berhasil jika variabel yang dimanipulasi dan jenis respon yang diharapkan dinyatakan secara jelas dalam suatu laporan penelitian. Hal ini sesuai dengan Djamarah (2002), metode eksperimen dilakukan dengan perbedaan perlakuan dalam satu percobaan. Hasil dari percobaan penelitian adalah dengan ditariknya suatu kesimpulan Analisis hasil penelitian.

3.4.1 Teknik Pengambilan Data

3.4.1.1 Data Primer

Data primer merupakan data yang diperoleh secara langsung dari sumber aslinya baik berupa opini, hasil observasi dan hasil pengujian (Umar, 2004). Pengumpulan data primer dalam penelitian ini adalah dengan observasi, wawancara, dan dokumentasi secara langsung di laboratorium. Observasi dilakukan dari pengujian aktivitas antibakteri dengan variabel konsentrasi senyawa uji yang berbeda. Selain itu, data tersebut diperoleh dari partisipasi aktif dalam proses uji aktivitas antibakteri senyawa aktif *T. sulcata* pada bakteri *E. coli*.

3.4.1.2 Data Skunder

Menurut Umar (2004), data sekunder adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan dari sumber-sumber yang sudah ada. Data-data ini biasanya diperoleh dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya baik berupa jurnal, buku, laporan dll. Data skunder dalam penelitian ini meliputi studi litelatur kepustakaan yang sesuai dengan tujuan penelitian. Data tersebut diperoleh dari jurnal, buku dan data lainnya untuk memperoleh informasi terkait dengan penelitian yang

sejenis baik yang sudah dilakukan sebelumnya atau yang sedang dilakukan dengan mencantumkan sumber yang dikutip.

3.5 Desain Penelitian

Desain penelitian ekstraksi senyawa aktif daging *T. sulcata* sebagai antibakteri *E. coli* dengan menggunakan ragam sebaran normal, dimana perlakuan dibedakan berdasarkan konsentrasi larutan uji. Pengulangan pengujian antibakteri dilakukan berdasarkan perlakuan yang ada, yaitu enam kali pengulangan. Adapun desain penelitian dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Desain Penelitian Antibakteri

Pengulangan	**Perlakuan Perbedaan Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak Daging *T. sulcata* (ppm)**				**Kontrol**	
	A	**B**	**C**	**D**	**E** (+)	**F** (-)
1	A1	B1	C1	D1	P1	N1
2	A2	B2	C2	D2	P2	N2
3	A3	B3	C3	D3	P3	N3
4	A4	B4	C4	D4	P4	N4
5	A5	B5	C5	D5	P5	N5
6	A6	B6	C6	D6	P6	N6
Total	∑ A	∑ B	∑ C	∑ D	∑ P	∑ N

Keterangan:
A : Konsentrasi 5.000 ppm
B : Konsentrasi 10.000 ppm
C : Konsentrasi 15.000 ppm
D : Konsentrasi 20.000 ppm
E : Kontrol Positif (+)
F : Kontrol Negatif (-)

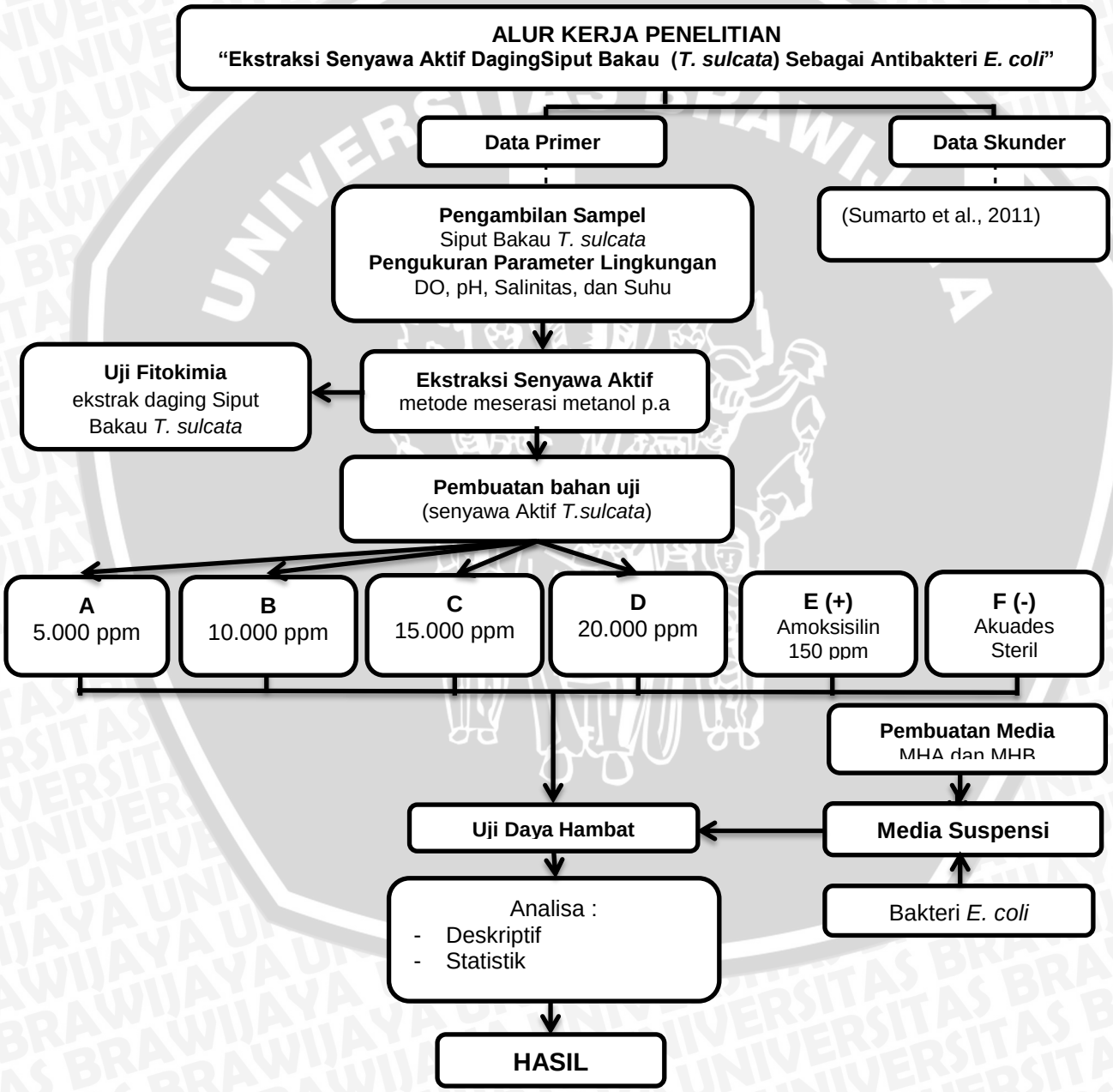
Hasil pengamatan dan pengukuran zona bening hasil uji antibakteri digunakan untuk menentukan Tabel Sidik Ragam. Penggunaan Tabel ini untuk menjawab adakah perbedaan nyata perlakuan konsentrasi larutan uji terhadap terbentuknya zona bening dengan penarikan H1 atau H0.

H1: Ekstrak daging *T. Sulcata* dalam berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap pertubuhan bakteri *E.coli*.

H0: Ekstrak daging *T. Sulcata* dalam berbagai konsentrasi tidak berpengaruh terhadap pertubuhan bakteri *E.coli*.

3.6 Alur Kerja Penelitian

Pelaksanaan penelitian uji aktivitas antibakteri memiliki tujuan dan tahapan yang dilakukan setiap waktu. Pembuatan skema kerja penelitian digunakan untuk memanfaatkan waktu secara efektif. Adapun skema kerja yang digunakan dalam penelitian uji aktivitas antibakteri ini dapat dilihat pada Gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Alur Kerja Penelitian

Pengujian dilakukan dengan perlakuan perbedaan konsentrasi yaitu 5.000, 10.000, 15.000, 20.000 ppm berdasarkan nilai efektifitas penelitian antibakteri (Miranti, 2015). Nilai konsentrasi bahan uji akan dibandingkan dengan larutan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan amoksisilin 150 ppm, dimana pada larutan tersebut secara konsentrasi efetif dalam menghambat pertumbuhan bateri *E. coli* (Miranti *et al*., 2013). Kontrol negatif yang digunakan adalah akuades steril dimana menyesuaikan dengan pelarut pembuatan media suspensi bakteri.

3.6.1 Pengukuran Parameter Lingkungan

Parameter lingkungan merupakan seluruh aspek ekologi biotik dan abiotik yang mempengaruhi keadaan lingkungan itu sendiri. Pengukuran parameter lingkungan secara keseluruhan mencakup parameter biologi, kimia, dan fisika. Pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pencemaran di lingkungan berdasarkan baku mutu yang ada. Menurut Efriyeldi dan Zulkifli (2015), sebuah nilai parameter suatu ekologi sangat mempengaruhi kualitas sampel penelitian dari lingkungan tersebut. Sehingga dalam penelitian uji aktivitas antibakteri dari *T. sulcata* ini peneliti juga mengukur kualitas ekologi seperti di bawah ini.

3.6.1.1 Pengukuran Suhu

Kualitas air secara umum menunjukkan mutu atau kondisi air yang dikaitkan dengan suatu kegiatan atau keperluan tertentu. Parameter ini meliputi parameter kimia, biologi, dan fisika. parameter fisika dari perairan salah satunya adalah suhu (Effendi, 2003). Pengukuran suhu lingkungan digunakan untuk mengetahui derajat panas perairan pantai Clungup. Pengukuran suhu perairan menggunakan Thermometer raksa dan pengukuran dilakukan dengan

menghindari paparan sinar matahari secara langsung. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan sensor Thermometer raksa secara vertikal kedalam permukaan perairan dan tunggu 1-2 menit agar thermometer menyesuaikan denagan suhu yang ada, kemudian lakukan pencatatan hasil pengamatan dan lakukan 3 kali pengulangan untuk mendapat hasil yang akurat.

3.6.1.2 Pengukuran pH

pH merupakan parameter kimia yang sering dihitung untuk menentukan kualitas perairan. pH menunjukkan derajat keasaman suatu larutan, peningkatan nilai pH menyebabkan ion penyusun alkalinitas juga mengalami perubahan (Effendi, 2003). Pada pengukuran pH hal yang pertama dilakukan adalah mengkalibrasi sensor pH meter dengan akuades. Kemudian sensor pH-meter dimasukan kedalam larutan sampel dan tunggu beberapa saat hingga nilai digital stabil. Terahir adalah melakukan pencatatan hasil pengamatan dan lakukan 3 kali pengulangan untuk mendapat hasil yang akurat.

3.6.1.3 Pengukuran DO (*Dessolved Oxygen*)

DO merupakan salah satu parameter lingkungan perairan yang sangat penting. Keadaan oksigen terlarut dalam perairan sangat berpengaruh terhadap metabolisme organisme bawah air. Nilai DO perairan biasanya berbanding lurus dengan kualitas kecerahan perairan (Effendi, 2003). Pada pengukuran DO hal yang pertama dilakukan adalah dengan mengkalibrasi sensor probe DO-meter dengan akuades. Kemudian memasukan sensor probe DO-meter pada larutan uji dan tunggu beberapa saat hingga nilai pengukuran stabil. Terahir lakukan pencatatan hasil pengukuran dan lakukan 3 kali pengulangan untuk mendapat hasil yang akurat.

3.6.1.4 Pengukuran Salinitas

Salinitas adalah konsentrasi total ion yang terdapat di perairan. salinitas menggambarkan padatan total di dalam air, setelah karbonat dikoversi menjadi oksida, semua bromida dan iodida digantikan oleh klorida, dan semua bahan organik telah dioksidasi (Effendi, 2003). Pengukuran salinitas perairan dilakukan dengan menyiapkan dan membersihkan sensor refraktometer dengan air steril (aquadest). Kemudian meneteskan air sampel pada sensor refraktometer dan amati angka yang ada pada refraktometer. Terahir lakukan pencatatan sebagai hasil pengukuran. Angka yang merupakan kadar salinitas yaitu angka yang ditunjukkan dengan batasan warna biru dan putih dan lakukan 3 kali pengulangan untuk mendapat hasil yang akurat.

3.6.2 Pengambilan Sampel *T. sulcata*

T. sulcata merupakan kelompok hewan kelas Gastropoda yang mendominasi ekosistem hutan mangrove di sebagian besar wilayah Asia Tenggara (Barnes, 2003). Siput ini banyak ditemukan di wilayah berlumpur pada hutan mangrove. Pengambilan sampel siput dilakukan di wilayah hutan mangrove pantai Clungup, Sendang Biru, Kab. Malang. Pertama yang dilakuakan adalah menentukan titik lokasi pengambilan sampel dengan menggunakan GPS untuk mengetahui titik koordinat pengambilan sampel. Kemudian mengumpulkan spesies *T. sulcata* dewasa yang memiliki rentang ukuran yang sama 4-6 cm yang diasumsikan telah melakukan reproduksi. Terahir menyimpan sampel *T. sulcata* pada cool box untuk dibawa ke Laboratorium guna diteliti sesuai dengan tujuan penelitian.

3.6.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan suatu upaya untuk mensterilkan bahan atau alat dari kontaminasi bakteri. Sterilisasi dalam penelitian identifikasi bakteri ini, bertujuan untuk menghancurkan dan memusnahkan mikroorganisme pada alat

dan bahan. Menurut Hastuti (2012), langkah kerja dalam metode sterilisasi alat dan bahan yang pertama adalah menyiapkan alat lalu cuci hingga bersih dengan air mengalir, tiriskan lalu membungkus alat dan bahan dengan menggunakan kerta alumunium foil. Kemudian alat yang telah dibungkus dimasukan kedalam Autoclaf dan tutup dengan benar. Selanjutnya menyalakan api kompor, ditunggu hingga autoclaf dalam keadaan suhu 121^{o} C dengan tekanan 1 atm, lalu tunggu hingga 15-20 menit proses sterilisasi alat dan bahan. Terahir mematikan kompor dan menurunkan tekanan autoclaf hingga 0 atm, kemudian mengeluarkan alat dan bahan yang di sterilisasi tunggu hingga mencapai suhu ruang. Alat dan hahan siap digunakan.

3.6.4 Ekstraksi Sampel Daging *T. sulcata*

Ekstraksi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan suatu substansi dengan menggunakan suatu larutan tertetu (Munawarah *et al*., 2012). Ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah suatu upaya untuk mendapatkan senyawa alkaloid dari ekstrak daging *T. sulcata.* Adapun langkah kerja seperti di bwah ini.

3.6.4.1 Penghalusan dan Pengelolaan Sampel *T. sulcata*

Penghalusan sampel *T. sulcata* merupakan salah satu upaya untuk memudahkan pengambilan ekstrak daging. Keadaan cangkang yang cukup keras maka perlu dilakukan pemisahan daging dan cangkang siput (Sumarto *et al*., 2011). Penghalusan dan pengelolaan sampel dilakukan dengan menyiapkan sampel *T. sulcata* yang didapat dari lhutan mangrove pantai Clungup. Hal yang pertama dilakukan adalah dengan memecah cangkang *T. sulcata* untuk memisahkan daging dengan cangkang. Kemudian daging *T. sulcata* dikeringkan di bawah sinar matahari secara langsung hingga kering untuk menghilangkan kadar air dalam daging. Terahir menghaluskan sampel daging dengan blander

hingga menjadi serbuk halus dengan tujuan memudahkan mempercepat proses ekstraksi dan sampel serbuk halus daging *T. sulcata* siap diekstraksi.

3.6.4.2 Ekstraksi Dengan Meserasi Sampel

Meserasi adalah suatu upanya pengekstrakan atau pemisahan senyawa dari suatu komponen dengan cara perendaman. Ekstraksi dengan metode ini bertujuan untuk memisahkan suatu substansi dengan menggunakan suatu larutan tertetu, salah satunya adalah larutan non-polar etanol 96% (Munawarah *et al*., 2012). Ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah suatu upaya untuk mendapatkan senyawa alkaloid dari ekstrak daging *T. sulcata.* Langkah pertama yang dilakukan dalam ekatraksi meserasi adalah dengan menyiapkan serbuk sampel hasil penghalusan daging *T. sulcata* dan larutan metanol p.a dengan perbandingan 1:4. Kemudian lakukan perendaman sampel serbuk daging *T. sulcata* dengan pelarut metanol-pa kedalam gelas ukur dan homogenkan. Selanjutnya melakukan penyimpanan sampel ekstraksi selama 3x24 jam pada suhu ruang dan lakukan pengadukan 3 kali dengan rentang 30 menit setiap 1x24 jam dengan tujuan terjadi pengadukan antra filtrat dan residu. Terahir melakukan filtrasi hasil esktrak antara residu dan filtrat ekstrak metanol pa, kemudian filtrat diuapkan dengan Rotavapor hingga didapatkan ekstrak pasta *T. sulcata*.

3.6.5 Uji Fitokimia Kualitatif

Analisis fitokimia merupakan bagian dari ilmu farmakognosi yang mempelajari metode atau cara analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau hewan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya, termasuk cara isolasi atau pemisahannya (Marliana *et al*., 2005). Adapun pengujian fitokimia secara kualitatif seperti di bawah ini.

3.6.5.1 Uji Alkaloid

Alkaloid adalah salah satu senyawa yang ditemukan pada tumbuhan dan hewan. Senyawa aktif alkaloid memiliki potensi sebagai antibakteri, sebab mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri (Sumarto *et al*., 2011). Hal pertama yang dilakukan untuk melakukan uji alkaloid adalah dengan menimbang sampel uji hasil ekstraksi 0,5 g kemudian dilarutkan kedalam 15 ml aquades steril kedalam tabung reaksi. Setelah itu, tambahkan 1 ml HCl 2N dan panaskan dalam waterbath pada suhu 100^0C selama 10 menit dan tambahkan larutan Mayer. Terahir, mengamati hasil reaksi, reaksi positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat (Harborne, 1987).

3.6.5.2 Uji Saponin

Saponin merupakan golongan senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan senyawa ini berfungsi sebagai antibiotik dengaan menyebabkan pembicoran enzim dan protein dalam sel bakteri, sehingga bakteri tidak mampu melakukan metabolisme secara normal (Sumartono *et al*., 2011). Pengujian adanya senyawa saponin dalam daging *T. sulcata* dilakukan dengan menimbang sampel hasil ekstrak sebanyak 0,5 g. hal yang pertama dilakukan adalah dengan melarutkan sampel pada 15 ml aquades steril dalam tabung reaksi. Kedua memanaskan sampel dalam waterbath pada suhu 80^0C selama 5 menit, kemudian dinginkan. Ketiga memisahkan residu dengan filtrat, lakukan pengkocokan selama 10 menit. Tahap terahir adalah mengamati hasil reaksi, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya busa (Harborne, 1987).

3.6.5.3 Uji Steroid

Steroid merupakan golongan senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan senyawa ini berfungsi mendenaturasi protein dalam sel, sehingga terjadi peluruhan dan kerusakan sistem metabolisme dalam sel bakteri (Sumartono *et al*., 2011). Uji steroid dilakukan dengan menyiapkan sampel hasil ekstrak sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 2 ml asetat anhidrat dalam tabung reaksi homogenkan. Setelah itu, lakukan penambahan larutan asam sulfat pekat 2 ml tunggu beberapa saat untuk mengamati hasil reaksi. Hasil positif ditunjukan dengan perubahan warna dari violet ke warna biru atau hijau (Harborne, 1987).

3.6.5.4 Uji Terpenoid

Terpenopid merupakan golongan senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan senyawa ini berfungsi sebagai antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri dengan perusakan lapisan porin peptidoglikan sehingga jalur suplay makanan dari luar kedalam sel terganggu hingga pada ahirnya bakteri kekurangan materi untuk melakukan pertumbuhan dan perkembangan sel (Sumartono *et al*., 2011). Uji deteksi senyawa terpenoid yang pertama dilakukan adalah menimbang sampel hasil ekstrak sebanyak 0,5 g yang ditambahkan pada 2 ml kloroform dalam tabung reaksi. Selanjutnya menambahkan larutan asam sulfat pekat 2 ml secara bertahap tunggu beberapa saat untuk mengamati hasil reaksi, hasil positif ditunjukan dengan terbentuknya warna coklat (Harborne, 1987).

3.6.5.5 Uji Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu senyawa yang banyak ditemukan pada ekstraksi tumbuhan dan hewan. Senyawa ini tergolong dalam senyawa aktif yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Senyawa ini mampu melakukan sintesis asam nukleat dengan menghambat pembentukan DNA dan rNA

sehingga bakteri tidak mampu melakukan pembelahan biner secara sempurna (Sumartono *et al*., 2011). Uji flavonoid yang pertama dilakukan adalah dengan meninbang sampel hasil ekstrak sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan pada 15 ml metanol dalam tabung reaksi. Kemudian memanaskan sampel dalam waterbath pada suhu 50^0C selama 5 menit dan tambahkan 5 tetes HCl dan 0,05 serbuk Mg. Tahap terahir melakukan pengamatan, hasil positif ditunjukan dengan terbentuknya warna kuning dan adanya endapan (Harborne, 1987).

3.6.5.6 Uji Fenol

Fenol adalah salah satu senyawa yang banyak ditemukan pada ekstraksi tumbuhan. Senyawa ini tergolong dalam senyawa aktif yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri bersifat *bakteriostatik.* Senyawa ini berperan dalam memacu enzim pembentukan protein, sehingga menyebabkan denaturasi protein secara berlebih didalam sel (Purwatiningsih *et al*., 2014). Uji kualitatif deteksi fenol dilakukan dengan menimbang sampel hasil ekstrak sebanyak 1 g kemudian ditambahkan pada 20 ml etanol 70% dalam tabung reaksi dan homogenkan. Kemudian mengambil sampel 5 ml dan tambahkan 10 tetes $FeCl_3$ 5%. Selanjutnya mengamati hasil positif ditunjukan dengan terbentuknya warna hijau atau biru (Harborne, 1987).

Hasil pengujian fitokimia ekstrak kasar daging *T. sulcata* kemudian dilakukan pengamatan secara visual dari reaksi terhadap reagen uji. Pengamatan hasil reaksi setiap uji dikategorikan positif (lemah, kuat, dan sangat kuat) dan negatif (tidak terjadi reaksi) (Firmansyah, 2015) sesuai Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Kategori Senyawa Aktif

Senyawa Aktif	Kategori			
	Tidak Terdeteksi (-)	Lemah (+)	Kuat (++)	Sangat Kuat (+++)
Alkaloid	Tidak terbentuk endapan endapan berwarna coklat	Terbentuk warna berwarna coklat terang	Terbentuk endapan coklat muda	Terbentuk endapan coklat tua
Flavonoid	Tidak terbentuk warna merah atau kuning	Terbentuk warna merah atau kuning terang	Terbentuk warna merah atau kuning muda	Terbentuk warna merah atau kuning tua
Saponin	Tidak terbentuk busa	Terbentuk busa selama 1-4 menit	Terbentuk busa selama 4-6 menit	Terbentuk busa selama 6-10 menit
Steroid	Tidak terbentuk perubahan warna dari Violet ke biru atau hijau	Terbentuk perubahan warna dari Violet ke biru bening atau hijau terang	Terbentuk perubahan warna dari Violet ke biru muda atau hijau muda	Terbentuk perubahan warna dari Violet ke biru tua atau hijau tua
Terpenoid	Tidak terbentuk warna merah coklat	Terbentuk warna merah coklat bening	Terbentuk warna merah coklat terang	Terbentuk warna merah coklat gelap
Fenol	Tidak terbentuk warna hijau atau biru	Terbentuk warna hijau atau biru bening	Terbentuk warna hijau atau biru muda	Terbentuk warna hijau atau biru tua

Hasil pengamatan visual uji fitokimia dilakukan dengan melakukan pemangamatan secara visual terhadap perubahan warna hasil reaksi sampel dengan reagen. Penilaian ini dilakukan dengan menggunakan 3 responden untuk menentukan kategori senyawa aktif dengan melihat perubahan warna, hal ini bertujuan untuk mendapatkan nilai yang obyektif dari responden. Adapun skala kategori fitokimia dapat dilihat pada Tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Kategori dan Standart Warna Fitokimia

Senyawa Aktif	Kategori dan Skala Warna			
	Tidak Terdeteksi (-)	Lemah (+)	Kuat (++)	Sangat Kuat (+++)
Alkaloid				
Flavonoid				
Terpenoid				
Steroid				
Fenol				

3.6.6 Pembuatan Sampel Uji Pada Kertas Cakram

Potensi *T. sulcata* sebagai antibakteri cukup baik, dimana pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa biota tersebut memiliki senyawa aktif (Sumartono *et al*., 2011). Maka dari itu, untuk mengetahui lebih lanjut mengenai potensi senyawa aktif berdasarkan konsentrasi dibuat skema kerja dengan rancangan percobaan RAL Anova. Pembuatan sampel uji pada kertas cakram dilakukan dengan menyiapkan kertas cakram dan ekstrak daging hasil ekstraksi meserasi yang telah ditimbang secara digital sesuai kebutuhan dan dilakukan pembuatan konsentrasi sesuai dengan desain penelitian sebelumnya, yaitu:.

- Larutan uji A 0,05 g ekstrak dilarutkan dalam 10 ml akuades steril.
- Larutan uji B 0,10 g ekstrak dilarutkan dalam 10 ml akuades steril.
- Larutan uji C 0,15 g ekstrak dilarutkan dalam 10 ml akuades steril.
- Larutan uji D 0,20 g ekstrak dilarutkan dalam 10 ml akuades steril.
- Larutan uji E Amoksisilin150 ppm: kontrol positif.
- Larutan uji F Akuades steril: kontrol negatif.

Selanjutnya, hasil pembuatan konsentrasi ekstrak diinjeksikan pada kertas cakram (*blank disk*) dengan volume 20 µl. Kertas cakram dengan konsentrasi ekstrak *T. sulcata* A, B, C, D, akuades steril, dan Amoksisilin150 ppm siap diujikan.

3.6.7 Pembuatan Media Suspensi Bakteri *E. coli*

Media suspensi merupakan suatu upaya untuk menumbuhkan bakteri biakan murni dalam suatu media tertentu yang bertujuan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Rijayanti *et al*., 2014). Adapun skema kerja pembuatan media suspensi bakteri seperti di bawah ini.

3.6.7.1 Media MHA

Media biakan untuk peremajaan bakteri biasanya menggunakan Mueller-Hinton Agar (MHA). Adapun kandungan dari MHA adalah pepton (6 g), kasein (17,5 g), pati (1,5 g) dan agar (10 g). Pembuatan media MHA, hal pertama yang dilakukan adalah dengan melakukan penimbangan komposisi media MHA sesuai standart. Kemudian menghomogenkan media MHA instant kedalam 1 L akuades, sterilisasi basah dengan autolave. Selanjutnya, menuangkan 5 ml untuk tabung reaksi kemudian dimiringkan (media agar miring) dan 10 ml untuk cawan petri (media tanam) tunggu hingga memadat, media siap digunakan (Hardy, 2016).

3.6.7.2 Media MHB

Media biakan untuk antibakteri *E. coli* biasanya menggunakan Mueller-Hinton Broth (MHB). Adapun kandungan dari MHB sebagai berikut Acid Hydrolysate of Casein 17.5 g, Beef Extract 3.0 g, dan Starch 1.5 g. Hal pertama yang dilakukan dalm pembuatan media MHB adalah dengan menimbang komposisi media MHB sesuai standart. Kemudian, menghomogenkan media MHB instant kedalam 1 L akuades kemudian sterilisasi basah denga autolave dan tuangkan 10 ml untuk tabung reaksi, media siap digunakan (Becton, 2012).

3.6.7.3 Larutan Mc Farland 0,5 CFU

Mc Farland adalah peyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl2 1% dan H2SO4 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian

antimikroba. Pembuatan larutan standart Mc Farland dilakukan dengan membuat larutan 1.175% (b/v) Barium klorida ($BaCl_2$) dan larutan 1% (b/v) Asam sulfat (H_2SO_4). Selanjutnya melakukan pencampuran kedua larutan ini berdasarkan rasio standart barium sulfat dan dihomogenkan. Kemudian lakukan penghitungan nilai absorbansi Mc Farland 0,5 CFU (populasi ± 1,5 x 10^8 CFU/ml) yang dibuat dan lakukan uji nilai Regresinya untuk membandingkan dengan padatan bakteri uji (Becton, 2012).

3.6.7.4 Media Suspensi Bakteri *E. coli*

Media suspensi merupakan suatu upaya untuk menumbuhkan bakteri biakan murni dalam suatu media tertentu yang bertujuan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Media ini ditanami bakteri dengan metode strike. Hal yang pertama dilakukan dalam Pembuatan media suspensi bakteri *E. coli* adalah dengan menyiapakn isolat bakteri *E. coli* dan media MHA. Kedua, melakukan peremajaan bakteri pada media MHA miring selama 3 hari berturut-turut. Ketiga, menginokulasi hasil peremajaan kedalam 2 ml media MHB pada tabung reaksi dan inkubasi pada pada suhu 37^o C selama 2x24 jam hingga kekeruhan mendekati nilai standart 0,5 Mc Farland 0,5 CFU serta lakukan uji nilai absorbansi dengan spectofotometer yang disesuaikan dengan nilai hasil regresi Mc Farland 0,5 CFU. Keempat, menghitung kepadatan bakteri hasil teraan 0,5 Mc Farland 1 (populasi ± 1,5 x 10^8 CFU/ml) dengan spektofotometer pada panjang gelombang 600 nm dan lakukan penyetaraan dengan penambahan atau pengurangan padatan bakteri yang diinginkan. Tahap terahir adalah menginokulasi bakteri hasil teraan Mc Farland 0,5 CFU pada media MHA dalam cawan petri dengan metode strike. Media suspensi bakteri *E. coli* siap digunakan (Rijayanti *et al*., 2014)..

3.6.8 Uji Antibakteri

Uji antibakteri merupakan suatu upaya untuk mencari komponen suatu senyawa dalam menghambat atau membunuh bakteri uji. Pengujian adanya aktivitas antibakteri suatu senyawa, biasanya ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media suspensi bakteri patogen. Hal pertama yang dilakukan untuk uji antibakteri adalah dengan menyiapkan media suspensi bakteri dan kertas cakram hasil injeksi larutan ekstraksi daging *T. sulcata.* Selanjutnya, menempelkan suspensi kertas cakram sampel, akuades steril, dan amoksisilin 150 ppm pada media MHA suspensi dengan jarak tertentu. Kemudian lakukan pengulangan uji antibakteri sebanyak 6 kali dan inkubasi hasil penempelan pada suhu 37^{o}C selama 3x24 jam. Tahap terahir adalah melakukan pengamatan dan dokumentasi hasil kemampuan aktivitas antibakteri dengan mengukur zona bening setiap rentang waktu 1x24 selama 3x24 jam (Sarip *et al*., 2014).

Analisa hasil pengukuran diameter zona bening hasil uji tantang ekstrak kasar daging *T. sulcata* terhadap pertumbuhan *E. coli* dibandingkan dengan standar antibakteri. Menurut Davis dan Stout (1971), standar katagori antibakteri suatu zat terhadap pertumbuhan bakteri dapat di lihat pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Kategori Range Diameter Zona Bening

Range Diameter Zona Bening (mm)	Keterangan Kategori
<5	Lemah
5-10	Sedang
10-19	Kuat
>20	Sangat Kuat

3.7 Analisis Data

Analisis data penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak daging *T. sulcata* pada *E. coli* dengan Analisis deskriptif dan statistik. Hasil pengamatan disajikan secara deskriptif dengan membandingkan hasil penelitian sebelumnya dan data sekunder lainnya. Analisis statistik yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan melakukan perhitungan ANOVA Rancangan Acak Lengkap (RAL) varian tunggal dalam ragam uji F. Uji F digunakan untuk mengetahui adakah perbedaan nyata hasil pengamatan zona bening terhadap perbedaan konsentrasi larutan uji yang dinyatakan dengan perbedaan F-hit dan F-tab dengan Analisis ANOVA analisis varian tunggal.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Parameter Lingkungan Penelitian

Parameter lingkungan adalah segala sesuatu yang mempengaruhi kondisi fisik suatu lingkungan yang berdampak pada seluruh komunitas biotik dan abiotik lingkungan. Kualitas air merupakan salah satu komponen terpenting yang mempengaruhi lingkungan (Agustiningsih *et al.*, 2012). Pada penelitian ini parameter yang digunakan adalah parameter fisika kualitas air yang meliputi suhu, pH, DO, dan salinitas. Adapun hasil pengukuran dan analisis parameter lingkungan selama penelitian sebagai berikut.

4.1.1 Pengukuran Kuaitas Air

Pengukuran parameter kualitas air ini meliputi suhu, pH, DO, dan salinitas dengan 3 kali pengulangan untuk mendapat hasil yang akurat. Adapun hasil pengukuran kualitas air pada stasiun pantai Clungup (Lampiran 1) dapat ilihat pada Tabel 7 di bawah ini.

Tabel 7. Data Pengukuran Kualitas Air di Estuari Pantai Clungup

No.	Parameter	Satuan	Nilai Rerata ± stdev (n=3)	Baku Mutu (KEPMEN LH No. 51 2004) untuk Biota Laut
1.	DO	mg/L	6,03 ± 0,15	>5
2.	Salinitas	ppm ($^0/_{00}$)	34 ± 0	33-34
3.	Suhu	^{0}C	30,33 ± 0,58	28-32
4.	pH	-	8 ± 0,06	7-8,5

Keterangan: stdev (standart deviasi) n: pengulangan pengukuran

Data hasil pengukuran kualitas air (DO, salinitas, suhu, dan pH) pada wilayah pesisir pantai Clungup, Kabupaten Malang pada Tabel 6 menunjukkan bahwa kondisi kualitas air masih berada di ambang batas baku mutu, akan tetapi

nilai salinitas perairan berada di ambang batas atas baku mutu. Nilai baku mutu yang digunakan sebagai pembanding hasil pengukuran kualitas air adalah Keputusan Mentri Lingkungan Hidup No. 51 tahun 2004 untuk biota laut yang sesuai dengan objek yang diteliti yaitu *T. sulcata* yang hidup di wilayah hutan mangrove.

Hasil pengukuran kadar salinitas di kawasan hutan mangrove pesisir pantai Clungup berada pada batas atas baku mutu yang ditentukan yaitu $34^0/_{00}$. Tingginya nilai salinitas ini diduga karena beberapa faktor, yaitu jarak hutan mangrove dengan pantai, lokasi pengambilan sampel dan waktu pengukuran salinitas perairan. Faktor pertama, salinitas air laut sesuai standar baku mutu sebesar $33\text{-}34^0/_{00}$ untuk wilayah pantai berkoral dan berlamun (Kepmen LH No. 51, 2004) diduga tidak mengalami perubahan salinitas ketika memasuki wilayah hutan mangrove dikarenakan jarak lokasi pengambilan data dengan pantai yang relatif dekat yaitu ± 500 m. Faktor kedua adalah tidak adanya aliran air tawar dari sungai yang masuk ke lokasi penelitian sehingga diduga salinitas perairan lebih stabil sesuai salinitas air laut. Faktor ketiga, waktu pengukuran salinitas perairan dilakukan pada siang hari saat terjadi surutnya pantai, diduga terjadi penguapan yang optimal sehingga salinitas air laut di lingkungan hutan mangrove berada pada titik maksimal. Tingginya nilai salinitas sebesar $34^0/_{00}$ tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *T. sulcata* di wilayah hutan mangrove pantai Clungup, dimana menurut penelitian yang dilakukan Ayunda (2011), di pulau Pari, *Terebralia* merupakan gastropoda yang mampu mentoleransi keadaan perubahan lingkungan dengan baik, dimana pada lingkungan normal *Terebralia* mencapai kepadatan tertinggi hingga 31,6 ind/m^2 di wilayah hutan mangrove.

4.1.2 Pengaruh Kualitas Air Terhadap *T. sucata*

T. sulcata adalah salah satu gastropoda yang mendominasi dan menghabiskan seluruh fase hidup di wilayah hutan mangrove. Jenis hewan ini memiliki ketergantungan yang besar terhadap hutan mangrove, karena sebagian besar sumber makanan berasal dari serasah daun mangrove yang jatuh dan mikroalga perairan (Meziane dan Tsuchiya, 2002). Keberadaan hutan mangrove dan ekosistem di dalamnya dipengaruhi oleh parameter kualitas air laut dan secara tidak langsung juga mempengaruhi dan kelangsungan hidup biota laut (Kristanti *et al.*, 2008) seperti *T. sulcata.*

Keadaan ekosistem suatu ekologi sangat dipengarui oleh keadaan lingkungan seperti kualitas perairan (Rand dan Petrocelli, 1985). Perubahan kualitas perairan secara ekstrim akan berdampak pada meningkatnya atau menurunnya populasi suatu spesies. Hal ini tergantung pada kemampuan suatu spesies memanfaatkan keadaan lingkungan untuk memacu sistem metabolisme sel (Yurisma et al., 2013), sehingga menyebabkan kepunahan, peningkatan pertumbuhan, dan infansi spesies (Simberloff, 2010). Pada hal ini perubahan lingkungan suatu perairan (DO, salinitas, pH, dan suhu) terhadap *T. sulcata* akan meningkatkan sistem imun yang menyebabkan terganggunya sistem metabolisme sel. Perubahan lingkungan ini akan berdampak pada dua fase metabolisme. Fase pertama adalah terhentinya fase pertumbuhan, yang diakibatkan oleh penurunan produksi senyawa metabolit primer. Fase kedua adalah peningkatan produksi senyawa aktif metabolit sekunder (Nofiani 2008). Hal ini disebabkan karena *T. sulcata* adalah salah satu biota laut yang tahan tarhadap perubahan lingkungan dimana biota ini akan menghasilkan senyawa aktif untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan (Sumarto *et al*., 2011).

Keadaan lingkungan perairan yang tidak sesuai dengan baku mutu perairan yang disebabkan oleh zat pencemar mengakibatkan ternyadinya tekanan fisik terhadap biota perairan. Pencemaran ini berdampak negatif terhadap pertumbuhan suatu biota laut, menurut Dicosmo dan Towers (1984), tekanan akibat perubahan akan berdampak pada peningkatan metabolisme, dimana pada fase ini, sel yang memiliki basa sukrosa dari rantai karbohidrat akan melakukan biosintesis metabolit sekunder untuk bertahan hidup. Akan tetapi peningkatan metabolit sekunder berbanding terbalik terhadap produksi metabolit priomer, dimana hal ini berdampak pada berhentinya fase pertumbuhan sel. Parameter lingkungan yang diukur di perairan hutan mangrove pantai Clungup, seperti DO, salinitas, suhu, dan Ph memiliki status normal. Keadaan parameter ini diasumsikan memiliki hubungan simbiosis naturalisme untuk mempengarui kehidupan biota laut seperti *T. sulcata.*

4.2 Ekstraksi Daging *T. sulcata*

Pada penelitian ini sampel *T. sulcata* yang di ekstraksi diambil di wilayah pesisir hutan mangrove pantai Clungup, Malang Selatan. Kriteria pengambilan sampel *T. sulcata* berdasarkan panjang *apetural* yaitu 4-6 cm, dimana data panjang rata-rata sampel yang didapat adalah 4,38 cm dengan diameter lingkar *apetural* terbesar 1,88 cm. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan sampel yang telah dewasa, sehingga diasumsikan sampel yang didapat sudah mengalami fase reproduksi. Sampel *T. sulcata* kemudian dipisahkan antara daging dan cangkangnya yang selanjutnya dikeringkan dibawah sinar matahari selama 7 hari hingga kering, hal ini bertujuan untuk mengkondisikan senyawa aktif tetap dalam kondisi baik. Sampel kering kemudian dihaluskan hingga didapat sampel serbuk halus *T. sulcata.* Menurut Heath dan Reineocius (1986), sampel ekstraksi yang memiliki ukuran yang kecil maka semakin luas bidang permukaan yang bersentuhan dengan bahan pelarut sehingga pengikatan dan penarikan senyawa

ekstrak akan mencapai nilai kesetimbangan system lebih cepat. Ukuran sampel dalam bentuk serbuk akan menjadikan proses ekstraksi berlangsung dengan baik dan efektif.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan suatu pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi ini akan dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel objek penelitian (Mukhriani, 2014). Ekstraksi *T. sulcata* yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan metode meserasi atau perendaman dengan metanol pa selama 3x24 jam. Menurut Suryandari (1981), semakin lama waktu ektraksi maka semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan, karena waktu bersentuhan bahan dan pelarut berbanding lurus dengan hasil ekstraksi, sehingga diasumsikan kemampuan absorsi dan adveksi pelarut terhadap senyawa yang ditarik lebih sempurna.

Penggunaan metode meserasi dalam ekstrak daging *T. sulcata* dikarenakan metode tersebut lebih mudah dan peralatan yang digunakan lebih sederhana, serta proses meserasi sangat menguntungkan dalam ekstraksi senyawa bahan alam seperti senyawa aktif daging *T. sulcata*. Pada proses perendaman ini terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna (Wullur *et al.,* 2015).

Penggunaan larutan ekstrak metanol pa pada penelitian ini dikarenakan larutan tersebut cukup efektif untuk mengikat senyawa aktif daging *T. sulcata.* Hal ini sesuai dengan pernyataan Astarina *et al*. (2013), bahwa metanol adalah pelarut yang bersifat universal yang dapat mengikat sebagian besar senyawa kimia baik polar, semipolar, dan non-polar**.** Proses meserasi bubuk halus *T. sulcata* dengan pelarut metanol pa dengan perbandingan 1:4 diekstraksi selama

3 hari dan setiap hari diaduk sebanyak 3 kali dengan jarak waktu 30 menit sekali. Pengadukan tersebut bertujuan untuk menghasilkan ekstraksi yang merata, dimana residu yang berada di bawah dapat terangkat ke atas dan terekstraksi secara sempurna. Hasil ekstrak cair metanol pa kemudian diuapkan dengan rotavapor hingga didapat ekstrak pasta daging *T. sulcata.*

4.2.1 Ekstrak Daging *T. sulcata*

Ekstraksi 250 gr bubuk halus daging *T. sulcata* dengan 1000 ml pelarut metanol pa menghasilkan 22,22 g sampel pasta daging *T. sulcata.* Hasil ekstrak ini memiliki bau yang menyengat dengan warna coklat kehitaman. Bau amis yang menyengat pada biota laut yang telah mati menandakan tingginya kadar protein dalam daging biota, salah satunya adalah daging *T. sulcata.* Bau yang menyengat ini dikarenakan berkurangnya kesegaran daging biota laut, terutama berasal dari amonia, trimethylamin, asam lemak yang mudah menguap dan hasil-hasil dari oksidasi asam lemak (Sulaiman dan Noor, 1982). Penampakan hasil warna ekstrak yang coklat kehitaman diduga karena kontaminasi susbstrat lumpur di wilayah hutan mangrove di pantai Clungup, Kabupaten Malang, dimana *T. sulcata* menghabiskan seluruh fase hidup di lingkungan berlumpur. Perubahan warna daging secara kimia menurut Andarwulan (2013), diakibatkan oleh proses oksidasi antara oksigen di udara dan mioglobin. Interaksi ini merubah mioglobin menjadi metmioglobin yang menjadikan daging tampak coklat kehitaman, hal ini biasanya terjadi pada daging yang dibiarkan dalam udara terbuka selama ± 5 jam. Hasil ekstrasi daging T.sulcata dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini.

Gambar 4. Hasil Ektraksi Daging *T.sulcata*

4.2.2 Nilai Rendemen Ekstrak Daging *T. sulcata*

Nilai rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh (ekstrak pasta) dengan nilai simplisia awal (jumlah sampel), yang dinyatakan dalam bentuk persentase (%) (Depkes RI, 2000). Data hasil rendemen ekstrak *T. sulcata* dengan pelarut Metanol pa dapat dilihat pada Tabel 8 di bawah ini.

Tabel 8. Perhitungan Rendemen ekstrak kasar daging *T. sulcata*

Pelarut	Massa		Volume Pelarut	Lama Ekstraksi	Ekstrak	Rendemen
	Basah bercangkang	Kering Serbuk Halus				
Sampel penelitian						
Metanol pa	9.870 gr	250 gr	1000 ml	3x24 jam	22,22 gr	0,225 %
Sampel penelitian terdahulu (Sumarto *et al*., 2011)						
Heksan	3.000 gr	68,90 gr	280 ml	6x24 jam	4,86 gr	0,162 %

Perbandingan nilai rendemen hasil ekstraksi sampel *T. sulcata* dengan penelitian terdahulu yang menggunakan pelarut heksan menunjukkan bahwa pelarut metanol memiliki hasil rendemen yang lebih besar yaitu 0,225% : 0,162%. Hal ini menunjukan bahwa pelarut metanol memiliki potensi yang baik dan efektif sebagai pelarut ekstrak jika dibandingkan dengan pelarutan heksan.

Hasil perhitungan nilai rendemen ekstrak daging *T. sulcata* dengan pelarut polar metanol pa didapatkan nilai sebesar 0,225%. Nilai rendemen yang

kurang dari 1% ini diduga karena massa *T. sulcata* didominasi oleh massa cangkangnya, ini sesuai dengan penelitian Sumarto *et al*. (2011), 77% massa *T. sulcata* basah berasal dari cangkang dan 22,64% terdiri dari daging dan cairan tubuhnya. Hasil pengukuran sampel *T. sulcata* basah bercangkang memiliki panjang 4,38 cm dengan diameter 1,88 cm dan berat rata-rata 8,15 gr/spesies, maka dapat diduga jumlah *T. sulcata* dewasa yang dibutuhkan untuk menghasilkan ekstrak pasta 22,22 gr sebanyak ± 1.200 ekor (massa seluruh sampel basah 9.870 gr : 8,15 gr massa satuan persampel).

4.3 Komponen Senyawa Fitokimia Ekstrak Daging *T. sulcata*

Uji fitokimia kualitatif bertujuan untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak kasar daging *T. sulcata,* dimana sesuai dengan tujuan penelitian peneliti ingin mengetahui potensi ekstrak kasar *T. sulcata* sebagai antibakteri pada *E. coli* dengan melihat hasil uji senyawa aktif. Menurut Rijayanti *et al*. (2014), senyawa aktif metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin memiliki potensi sebagai antibakteri.

Menurut Astuti (2015), unsur pokok senyawa metabolit sekunder dalam tanaman meliputi senyawa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan fenolik. Senyawa-senyawa metabolit sekunder hasil fitokimia tumbuhan juga ditemukan pada hewan akibat terakumulasi melalui sumber makanannya, hal ini sesuai dengan teori bahwa zat-zat makanan akan terakumulasi dalam tubuh yang mengakibatkan adanya reaksi dan penumpukan zat dalam daging (Boskovic *et al*., 2010). Uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan terpenoid, sehingga dengan melakukan 6 uji fitokimia yang berbeda diasumsikan sudah mewakili keseluruhan uji senyawa aktif metabolit sekunder. Adapun hasil uji fitokimia senyawa aktif ekstrak kasar *T. sulcata* dapat dilihat pada Tabel 9 di bawah ini.

Tabel 9. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak kasar *T. sulcata*

Senyawa Aktif	Hasil Visualisasi	Keterangan
Alkaloid	++	Terbentuk endapan coklat muda
Flavonoid	+	Terbentuk warna merah atau kuning terang
Saponin	+++	Terbentuk busa selama 6-10 menit
Steroid	-	Tidak terbentuk perubahan warna dari Violet ke biru atau hijau
Terpenoid	++	Terbentuk warna coklat terang
Fenol	+	Terbentuk warna hijau atau biru bening

Keterangan: (-) = tidak terdeteksi (++) = kuat
(+) = lemah (+++) = sangat kuat

Hasil uji fitokimia ditentukan berdasarkan pengamatan visual dari perubahan warna dan terbentuknya busa sebagai hasil respon terhadap larutan uji yang digunakan. Pengamatan visual ini dinilai dari 3 responden yang berbeda untuk mendapatkan nilai yang objektif. Senyawa aktif hasil uji fitokimia ditentukan berdasarkan nilai kualitatif, yaitu tidak terdeteksi, lemah, kuat dan sangat kuat yang didasarkan hasil pengamatan visual terbentuknya indikator dari masing-masing larutan uji fitokimia. Berdasarkan hasil penilaian visual uji fitokimia ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan pelarut polar, didapatkan hasil senyawa alkaloid (kuat), flavonoid (lemah), saponin (sangat kuat), terpenoid (kuat), dan fenol (lemah). Hasil uji fitokimia *T. sulcata* ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sumarto *et al.* (2011), senyawa aktif metabolit sekunder dengan pelarut non-polar heksan yaitu senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid. Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut polar mampu mengikat jenis senyawa fitokimia lebih banyak dari sampel *T. sulcata.*

4.3.1 Alkaloid

Hasil ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan pelarut polar metanol pa pada uji fitokimia senyawa aktif alkaloid, menunjukkan hasil yang positif. Secara pengamatan visual hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa alkaloid memiliki tingkat konsentrasi yang kuat yang ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda. Hasil uji alkaloid ekstrak kasar daging *T. sulcata* dapat dilihat pada Gambar 5 di bawah ini.

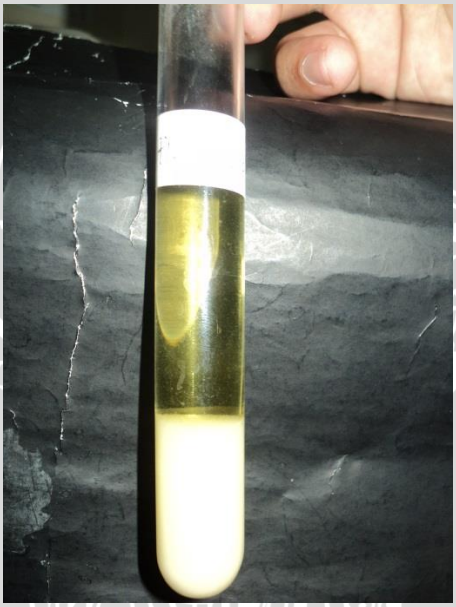
Gambar 5. Hasil Uji Alkaloid

Senyawa alkaloid banyak ditemukan di sebagian besar tumbuhan dengan kadar yang berbeda, akan tetapi senyawa ini juga ditemukan di dalam hewan salah satunya adalah *T. sulcata.* Senyawa aktif yang ditemukan pada ekstrak daging *T. sulcata* adalah senyawa alkaloid yang bersifat non-polar (Sumarto *et al*., 2011). Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat racun yang mengandung gugus alkaloida (Lenny, 2006). Menurut Robinson (1985), alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri yang juga dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara sempurna yang menyebabkan kematian sel bakteri. Kematian sel bakteri ini akibat terjadinya tekanan dan pemacuan sistem kerja syaraf yang tidak terkontrol (Carey, 2006). Mekanisme kerja daya hambat

alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan menjadi interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Rijayanti, 2014).

4.3.2 Flavonoid

Hasil ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan pelarut polar metanol pa pada uji fitokimia senyawa aktif flavonoid, menunjukkan hasil yang positif. Secara pengamatan visual hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa flavanoid memiliki tingkat konsentrasi yang lemah dimana ditandai dengan terbentuk warna merah atau kuning terang. Hasil uji flavonoid ekstrak kasar daging *T. sulcata* dapat dilihat pada Gambar 6 di bawah ini.



Gambar 6. Hasil Uji Flavonoid

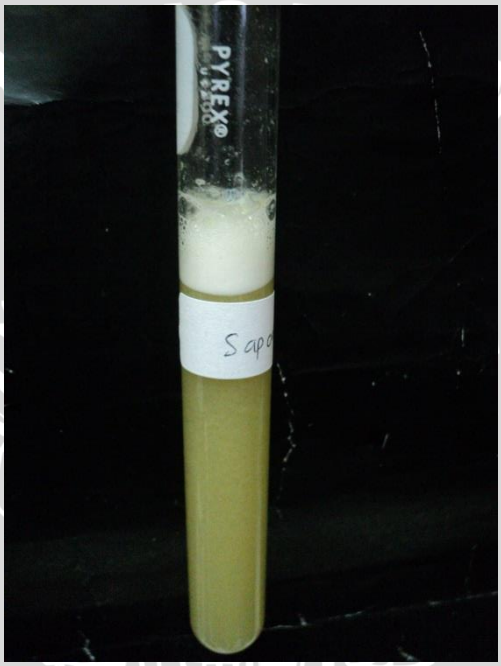
Hasil uji flavonoid ini sejalan dengan hasil penelitian Sumarto *et al*. (2011), yang menyatakan bahwa sampel *T. sulcata* yang didapat di pesisir Tembilan Kabupaten Indragiri Hilir mengandung senyawa flavonoid setelah diuji dengan KLT sinar UV. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang berada di dalam *T. sulcata* banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional antiinfeksi, dikarenakan yang terkandung dalam *T. sulcata* adalah senyawa flavonoid dan alkaloid yang memiliki potensi sebagai antimikroba (Filianty *et al.,* 2007).

Menurut Rijayanti (2014), mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu dengan cara menghambat fungsi membran sel, sintesis asam nukleat, dan metabolisme energi. Senyawa flavonoid sebagai penghambat sintesis asam nukleat adalah dengan menghambat pembentukan DNA dan RNA. Penghambatan ini terjadi karena senyawa flavonoid mensintesis pembentukan cincin basa A dan B yang memegang peran penting interkelasi ikatan hidrogen sehingga terjadi penumpukan basa nukleat. Letak gugus hiroksil bakteri akan dihiroksilasi oleh cicin B, sedangkan cincin A berperan penting terhadap aktivitas antibakteri senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid dalam hal ini menyebabkan terjadinya permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosome, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel adalah terjadinya pembentukan senyawa kompleks dengan protein ekstrakselular yang terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler bakteri. Menurut Ardananurdin *et al.* (2004), senyawa kompleks yang dihasilkan flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan pada permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase. Mekanisme kerja flavonoid sebagai penghambat metabolisme energi adalah dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitocrom C reuktase sehingga kerja metabolisme bakteri terhambat. Pada ahirnya bakteri tidak mampu membentuk energi untuk biosintesis makromolekul.

4.3.3 Saponin

Hasil ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan pelarut polar metanol pa pada uji fitokimia senyawa aktif saponin, menunjukkan hasil yang positif. Secara pengamatan visual hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa saponin memiliki tingkat konsentrasi yang sangat kuat dimana ditandai dengan terbentuk busa selama 6-10 menit. Hasil Uji Saponin ekstrak kasar daging *T. sulcata* dapat dilihat pada Gambar 7 di bawah ini..



Gambar 7**.** Hasil Uji Saponin

Hasil uji ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Sumarto *et al*. (2011), kandungan senyawa aktif yang berada di dalam *T. sulcata* dengan pelarut heksan adalah senyawa saponin, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa aktif saponin memiliki potensi sebagai antimikroba, dimana senyawa ini mengganggu stabilitas membran sel sehingga menyebabkan terjadinya lisis sel bakteri (Ardananurdin *et al*., 2004).

Menurut Rijayanti (2014), senyawa saponin berpotensi sebagai antibakteri, karena dapat menyebabkan kebocoran enzim dan protein dari dalam sel bakteri. Permukaan saponin yang memiliki karakteristik permukaan seperti detergen mengakibatkan senyawa ini mampu menjadi antibakteri. Senyawa saponin akan berperan dalam penurunan tegangan permukaan dinding sel dan merusak permeabilitas membran sehingga pada ahirnya sel bakteri tidak mampu melangsungkan hidupnya. Saponin masuk secara difusi ke dalam sel bakteri melalui membran luar dan dan dinding selnya, pada fase ini saponin mengikat membran sitoplasma yang rentang, sehingga menganggu dan mengurangi kesetabilan membran sel.

4.3.4 Steroid

Hasil ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan pelarut polar metanol pa pada uji fitokimia senyawa aktif steroid, menunjukkan hasil yang negatif. Secara pengamatan visual hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa steroid tidak terbentuk perubahan warna dari violet ke biru atau hijau. Hasil uji steroid ekstrak kasar daging *T. sulcata* dapat dilihat pada Gambar 8 di bawah ini.

Gambar 8. Hasil Uji Steroid

Disimpulkan bahwa hasil uji ekstrak kasar daging *T. sulcata* tidak mengandung senyawa aktif jenis steroid, hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sumarto *et al*. (2011), pada sampel *T. sulcata* dengan metode KLT sinar UV tidak mendeteksi adanya senyawa steroid.

4.3.5 Terpenoid

Hasil ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan pelarut polar metanol pa pada uji fitokimia senyawa aktif terpenoid, menunjukkan hasil yang positif. Secara pengamatan visual hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa terpenoid memiliki tingkat konsentrasi yang kuat dimana ditandai dengan terbentuk warna coklat terang. Hasil uji terpenoid ekstrak kasar daging *T. sulcata* dapat dilihat pada Gambar 9 di bawah ini.

Gambar 9. Hasil Uji Terpenoid

Terpenoid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antibakteri, golongan senyawa terpenoid ini meliputi monoterpenoid, linalool, diterpenoid hardwicklic acid, phytol, triterpenoid saponin, triterpenoid glikosida (Gunawan *et al*., 2008). Sebagai senyawa

antibakteri, terpenoid memiliki peranan penting dalam perusakan sel bakteri, dimana dalam mekanismenya terpenoid bereaksi dengan merusak porin (protein transmembran) sel bakteri. Porin akan bereaksi ketika terpenoid membentuk ikatan polimer yang kuat dan dapat merusak porin itu sendiri. Kerusakan pada porin akan mengurangi permeabilitas dinding sel yang akan mengakibatkan terganggunya suplay nutrisi pada sel bakteri yang pada ahirnya menghambat pertumbuhan bakteri secara terus menerus dan mati (Cowan, 1999).

4.3.6 Fenol

Hasil ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan pelarut polar metanol pa pada uji fitokimia senyawa aktif fenol, menunjukkan hasil yang positif. Secara pengamatan visual hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa fenol memiliki tingkat konsentrasi yang lemah dimana ditandai dengan terbentuk warna hijau bening. Hasil uji fenol ekstrak kasar daging *T. sulcata* dapat dilihat pada Gambar 10 di bawah ini.

Gambar 10. Hasil Uji Fenol

Senyawa fenol adalah salah satu senyawa pokok metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri. Senyawa ini larut dalam lemak dan mampu menahan pertumbuhan gram positif karena memiliki kemampuan penetrasi terhadap dinding sel bakteri (Purwantiningsih *et al.*, 2014). Fenol dalam konsentrasi rendah dapat mengaktifkan system enzym penting dalam sel bakteri, sedangkan pada konsetrasi tinggi fenol mampu mkenembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri sehingga menyebabkan terganggunya pertumbuhan dan perkembangan bakteri (Oliver *et al*., 2001).

Menurut Damayanti dan Suparjana (2007), mekanisme penghambatan senyawa fenol terhadap pertumbuhan bakteri adalah dengan merusak membran sel dan mendenaturasi protein sehingga terjadi penurunan permeabilitas dinding sel yang berakibat pada kerusakan dinding sel. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan terganggunya transportasi ion-ion organik penting yang berdampak pada terganggunya pertumbuhan dan kematian sel bakteri. Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam menghambat dan membunuh mikroba secara reaksi kimia terjadi akibat denaturasi protein sel mikroba. Ikatan unsur kimia hidrogen yang terbentuk antara senyawa fenol dan protein mengakibatkan struktur penyusun protein menjadi rusak. Kerusakan protein berakibat pada permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma karena keduanya tersusun atas protein. Kerusakan dinding sel dan sitoplasma menyebabkan ketidak setimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel bakteri menjadi lisis (Rijayanti, 2014).

4.4 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging *T. sulcata* Pada *E. coli*

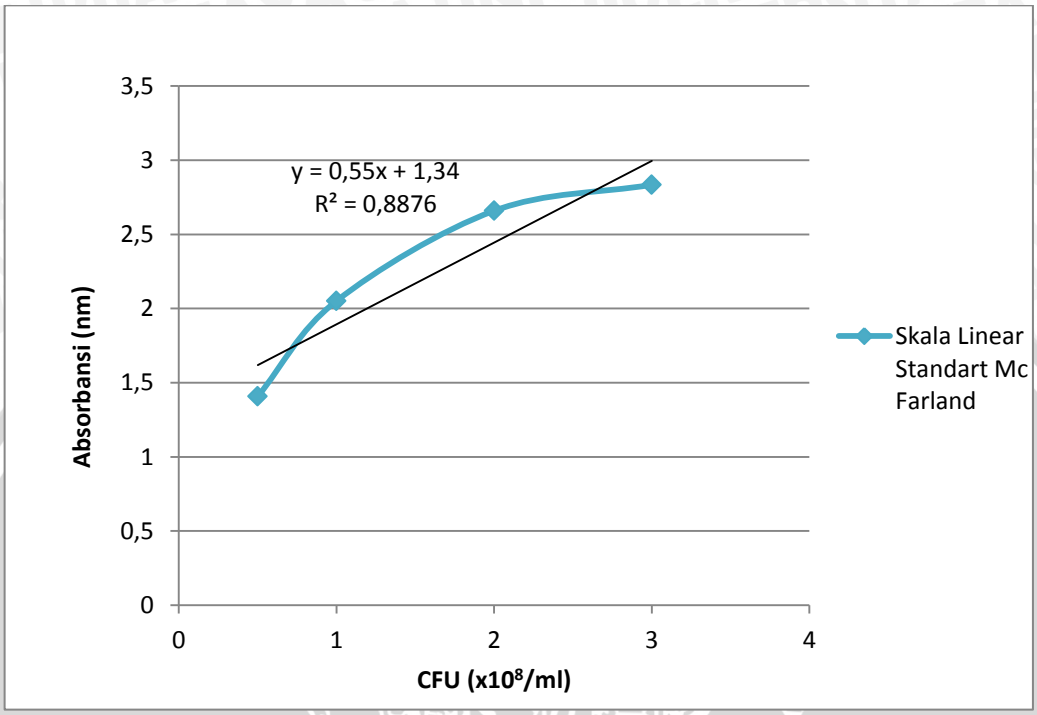
Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar *T. sulcata* terhadap bakteri *E. coli* dengan berbagai konsentrasi yang berbeda ditunjukan dengan pengukuran zona bening. Pengujian dilakukan dengan membuat konsentrasi bakteri dengan standart Mc. Farlan 0,5 CFU. Penentuan kepadatan bakteri dilakukan dengan perhitungan nilai absorbansi dengan spektofotometer untuk mendapat hasil yang lebih akurat. Kepadatan bakteri uji dapat dihitung dengan regresi sederhana, akan tetapi untuk mendapat nilai kepadatan bakteri harus dilakukan pengukuran nilai absorbansi standar Mc. Farland 0,5, 1, 2, 3, dan bakteri *E. coli*. Bakteri *E. coli* yang digunakan sebagai sampel pengukuran nilai absorbansi berumur 2x24 jam, dikarenakan pada umur tersebut kepadatan bakteri mendekati standart Mc Farland 0,5 CFU. Nilai standart pengukuran absorbansi bakteri *E. coli* adalah dengan spektofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Adapun hasil pengukuran nilai absorbansi dapat dilihat pada Tabel 10 di bawah ini.

Tabel 10. Nilai Absorbansi

Sampel	Nilai Absorbansi
E. coli	1,175
Mc F 0,5	1,407
Mc F 1	2,051
Mc F 2	2,659
Mc F 3	2,834

Hasil pengukuran nilai absorbansi standart M Farland 0,5 sampai 3 menunjukkan peningkatan nilai absorbansi, hal ini menunjukkan bahwa kepadatan standart Mc Farland meningkat seiring dengan peningkatan skalanya. Hal ini sesuai dengan pernyataan pernyataan Sumardiono (2015), nilai absorbansi standart Mc Farland dalam setiap skala mengalami peningkatan, hal ini disebabkan oleh bertambahnya larutan BaCl2 1% yang digunakan dalam

pembuatan standart Mc Farland 0,5 CFU. Adapun hasil perhitungan regresi linear nilai absorbansi standart Mc Farland 0,5 CFU dapat dilihat pada Gambar 11 di bawah ini.

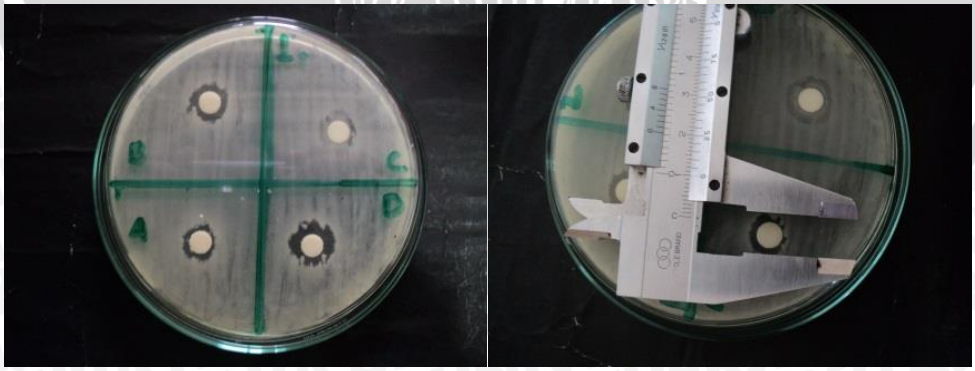


Gambar 11. Grafik Serapan Skala Standart McFarland (ʎ=600 nm)

Hasil pengukuran nilai absorbansi standart Mc Farland 0,5-3 CFU didapatkan nilai regresi y=1,34+0,55x. Nilai regresi ini digunakan untuk mencari nilai X (kepadatan bakteri) dengan memasukan nilai Y (absorbansi) hasil pengukuran spektofotometer. Hasil perhitungan nilai regresi bakteri *E. coli* yang berumur 2x24 jam belum sesuai dengan kepadatan standart Mc Farland 0,5 CFU sebesar 0,128 (1.407= 1,34+0,55X). Menurut Angert (2005), nilai kinetika pertumbuhan berbanding lurus dengan nilai absorbansi bakteri *E. coli.* Bakteri *E. coli* akan mengalami pembelahan biner sel secara melintang, sehingga berjumlah 2 kali lipat dari jumlah semula, maka dari hal ini bakteri *E. coli* yang berumur 2x24 jam dengan absorbansi 1,175 nm akan dibiarkan tumbuh hingga diasumsikan mendekati nilai absorbansi Mc Farland 0,5 CFU.

Nilai absorbansi *E. coli* yang berumur 2x24 jam adalah 1,175 nm, dimana memiliki tingkat pertumbuhan 0,05 nm/jam. Nilai asumsi absorbansi yang dibutuhkan bakteri *E. coli* untuk mendekati standart Mc Farland 0,5 CFU adalah 0,232 nm. Nilai absorbansi 0,232 nm dapat dicapai oleh bakteri *E. coli* dengan menambah waktu tumbuh selama 5 jam dengan kisaran pertambahan absorbansi 0,25 nm, sehingga penanaman bakteri *E. coli* pada media suspensi MHA memiliki umur 2,2x24 jam dengan asumsi nilai absorbansi sebesar 1,425 nm (1.175+0,25) dengan padatan 0,154 CFU (1,425= 1,34+0,55X) mendekati standart Mc Farland 0,5 sebesar 0,128 CFU.

Penanaman bakteri pada media MHA diikuti dengan peletakan *Blank disk* (Kertas cakram) yang memiliki diameter 6 mm, selanjutnya dilakukan injeksi berdasarkan perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daging *T. sulcata* dengan volume masing-masing 20 µl. Perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daging *T. sulcata* yaitu perlakuan A (5.000 ppm), B (10.000 ppm), C (15.000 ppm), dan D (20.000 ppm). Bakteri selanjutnya diinkubasi dan dilakukan pengamatan sebanyak 3 kali setiap rentang waktu 1x24 jam. Pengukuran zona bening ekstrak kasar daging *T. sulcata* terhadap bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 12 di bawah ini.



Gambar 12. Hasil Pengukuran Zona Bening

4.4.1 Hasil Pengukuran Zona Bening

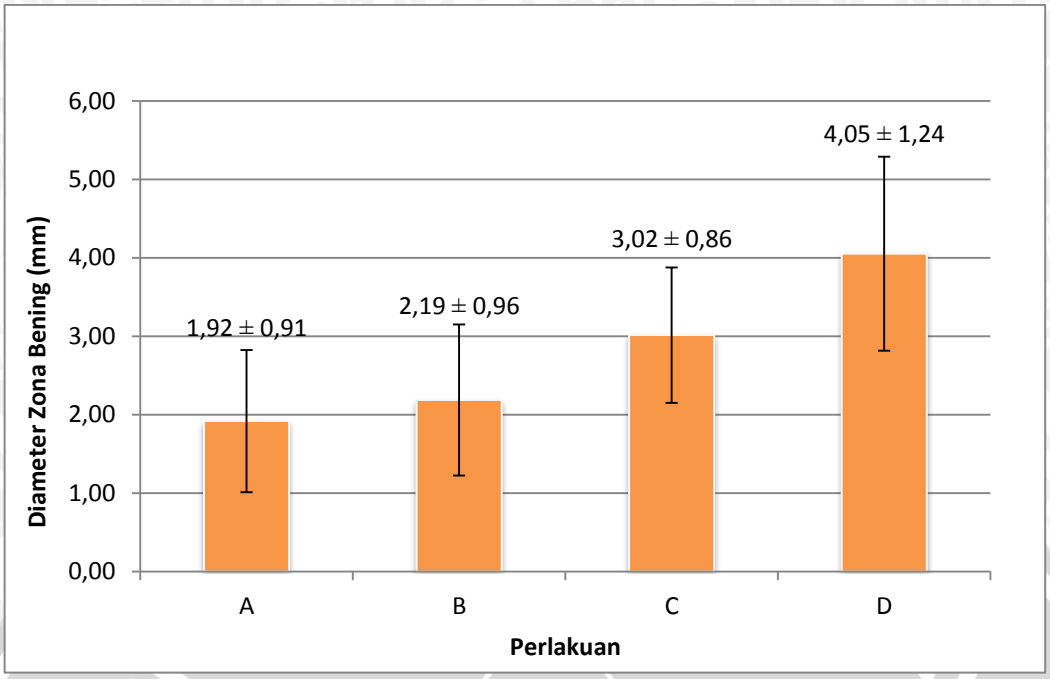
Uji antibakteri ekstrak kasar *T. sulcata* dengan konsentrasi yang berbeda yaitu A, B, C, dan D terhadap bakteri *E. coli* dengan melakukan pengukuran diameter zona bening pada masa inkubasi 1x24 jam. Pengujian zona bening ini menggunakan kontrol E (kontrol positif Amoxcisilin 150 ppm) dan F (control negatif akuades steril). Data hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan koloni bateri *E. coli* dengan 6 kali pengulangan pada media MHA pada taraf konsentrasi yang berbeda beserta kontrol positif dan negatif dapat dilihat pada Tabel 11 di bawah ini.

Tabel 11. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Ulangan						total	Rerata
	1	2	3	4	5	6		
A	2,35	2,98	2,48	2,05	1,00	0,65	11,51	1,92
B	3,30	2,05	2,60	3,03	0,93	1,23	13,14	2,19
C	4,33	3,30	3,13	3,18	1,85	2,30	18,09	3,02
D	4,75	5,92	3,55	4,40	2,40	3,30	24,32	4,05
E	14,25	15,10	15,00	14,20	13,80	14,18	86,53	14,42
F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Keterangan: A. Ekstrak 5.000 ppm B. Ekstrak 10.000 ppm
C. Ekstrak 15.000 ppm C. Ekstrak 20.000 ppm
E. Amoxcisilin 150 ppm F. Akuades steril

Berdasarkan data pada Tabel 9 dibuat grafik pengaruh konsentrasi ekstrak kasar *T. sulcata* terhadap kemampuan penghambatan pertumbuhan koloni bakteri *E. coli.* Adapun grafik hasil pengukuran zona bening ekstrak kasar *T. sulcata* terhadap *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 13 di bawah ini.



Gambar 13. Grafik Pengukuran Zona Bening

Berdasarkan Gambar 13 diketahui adanya pengaruh pemberian ekstrak kasar daging *T. sulcata* pada semua perlakuan konsentrasi. Pengaruh konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* diketahui seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan pengukuran zona bening. Data yang disajikan pada gambar 13 diketahui bahwa pemberian hasil ekstrasi daging *T. sulcata* dengan pelarut metanol pa berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *E. coli.*

Terbentuknya zona bening tersebut dikarenakan hasil pengujian ekstrak kasar daging *T. sulcata* terdeteksi memiliki senyawa metabolit sekunder. Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar daging *T. sulcata* memiliki senyawa aktif yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan fenol. Hasil metabolit sekunder memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai mekanise kerja secara sinergis, dimana penghabatan pertubuhan bakteri *E. coli* diduga dengan melakuan perusakan pada struktur dan sistem metabolisme bakteri (Rijayanti, 2014).

Data rerata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diperlakukan dengan hasil ekstrak kasar daging *T. sulcata* disajikan dalam bentuk persentase untuk melihat kemampuan dari tiap konsentrasi. Perhitungan persentase zona hambat menggunakan rumus sebagai berikut (Sastrosupandi, 2000).

$$\text{Persentase} = \frac{Rerata\ diameter\ zona\ hambat\ pertumbuhan}{Rerata\ diameter\ zona\ hambat\ Amoxcisilin}\ x\ 100\%$$

Data rerata hasil perhitungan diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 12 di bawah ini.

Tabel 12. Data persentase rerata diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli*

Perlakuan (konsentrasi ekstrak)	**Rerata diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli***	**% rerata diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli***
A (5000 ppm)	1,92	13,31%
B (10.000 ppm)	2,19	15,19%
C (15.000 ppm)	3,02	20,94%
D (20.000 ppm)	4,05	28,09%
E (Amoxcisilin 150 ppm)	14,42	100,00%
F (akuades steril)	0,00	0,00%

Penyajian data persentase hasil pengukuran zona hambat pada pertumbuhan bakteri *E. coli* didapatkan ekstrak pada konsentrasi 20.000 ppm memiliki diameter persentase paling tinggi yaitu 28,09%. Niliai persentase ini diduga dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak diasumsikan volume senyawa metabolit sekunder yang terkandung semakin tinggi pula.

4.4.2 Analisis Data

4.4.2.1 Konsentrasi Perlakuan Ekstrak dan Kontrol

Data diameter zona hambat pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* pada Tabel 9 memiliki nilai sebaran abnormal, dimana hasil perhitungan uji normalitas menunjukan koofisien korelasi antara rata-rata dan simpangan baku adalah 1. Hal ini disebabkan oleh nilai sebaran diameter zona bening yang tidak homogen, dimana pada perlakuan dan kontrol negatif (perlakuan F) memiliki nilai yang

mendekati 0 (nol) dan 0 (nol) sedangkan pada kontrol positif (perlakuan E) memiliki nilai rerata 14,42 mm. Perbedaan yang sangat jauh ini akan merusak nilai ragam homogennitas data, sehingga perlu dilakukan perbaikan data dengan cara transformasi data. Tranformasi data dilakukan sebelum data diolah pada analisis lebih lanjut. Transformasi data dilakukan dengan menstranformasikan data hasil pengukuran zona bening Tabel 10 dalam transformasi *square root*. Transformasi *square root* digunakan untuk meragamkan data secara homogen yang memiliki nilai yang sebagian besar kecil dan khususnya nilai 0 (nol) dengan rumus $\sqrt{x+0{,}5}$ (Sastrosupadi, 2000). Hasil transformasi data pengukuran diameter zona bening pertumbuhan koloni *E. coli* dalam berbagai taraf konsentrasi dapat dilihatn pada Tabel 13 di bawah ini.

Tabel 13. Data Transformasi Diameter Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli*

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)						Jumlah	Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6		
A	1,69	1,87	1,73	1,60	1,22	1,07	9,17	1,53
B	1,95	1,60	1,76	1,88	1,20	1,32	9,70	1,62
C	2,20	1,95	1,91	1,92	1,53	1,67	11,18	1,86
D	2,29	2,53	2,01	2,21	1,70	1,95	12,70	2,12
E	3,84	3,95	3,94	3,83	3,78	3,83	23,17	3,86
F	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	0,71	4,24	0,71

Berdasarkan nilai data hasil transformasi Tabel 13 dilakukan analisis varian tunggal RAL (Rancangan Acak Lengkap) untuk menentukan penarikan H1 (hipotesis alternatif): Ekstrak daging *T. Sulcata* dalam berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap pertubuhan bakteri *E.coli* atau H0 (hipotesis nol): Ekstrak daging *T. Sulcata* dalam berbagai konsentrasi tidak berpengaruh terhadap pertubuhan bakteri *E.coli*. Penarikan ini di dasarkan pada hasil perhitungan Ftab (Frekuensi tabel) yang dibandingkan dengan Fhit (Frekuensi hitung), jika Fhit >

Ftab maka hipotesis diterima (H1) sedangkan jika Fhit < Ftab maka hipotesis ditolak (H0). Adapun hasil perhitungan analisis varian tunggal dapat dilihat pada pada Tabel 14 di bawah ini.

Tabel 14. Hasil Analisis RAL Pengukuran Diameter Zona Bening

SK	db	JK	KT	Fhit	F1%
Perlakuan	5	33,16	6,63	119,14	3,70
Galat	30	1,67	0,06		
Total	35	34,83			

Berdasarkan hasil perhitungan Analisis varian tunggal RAL Tabel 13 diketahui bahwa F hitung (119,14) lebih besar dari F Tabel dengan taraf signifikan 1% (3,70) sehingga hipotesis diterima (H1) yaitu ekstrak daging *T. Sulcata* dalam berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap pertubuhan bakteri *E.coli*. Hasil perhitungan menyatakan Fhit > Ftab, maka disimpulkan terdapat beda nyata signifikan taraf konsentrasi ekstrak kasar daging *T. sulcata* terhadap pertumbuhan *E. coli*. Berdasarkan hasil beda nyata signifikan perlu dilakukan uji lebih lanjut yaitu dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) taraf signifikasi 1% untuk mengetahui pada nilai konsentrasi terendah berapa ekstrak kasar daging *T. sulcata* efektif sebagai penghambat pertumbuhan *E. coli*. Hasil uji lanjut dengan BNT dapat dilihat pada Tabel 15 di bawah ini.

Tabel 15. Analisis Hasil Perhitungan BNT 1%

Perlakuan	Rerata	Notasi	Rumus	Perbandingan Angka
F	0,71	A	A-F	0,82
A	1,53	b	B-A	0,09
B	1,62	b	C-A	0,33
C	1,86	c	D-A	0,59
D	2,12	c	E-B	2,24
E	3,86	D	E-C	2,00

Nilai BNT 1%= 0,46

Batas bawah dalam perlakuan ini adalah akuades steril, sedangkan batas atas menggunakan Amoxcisilin sebagai kontrol positif pembanding pembentukan zona bening dengan perbedaan taraf konsentrasi ekstrak kasar daging *T. sulcata*. Berdasarkan uji BNT didapatkan nilai notasi a sebagai batas bawah yaitu F (akuades steril), dimana terdapat perbedaan pada perlakuan A ekstrak dengan F, sehingga perbedaan ini mengubah nilai notasi menjadi b. Pengukuran nilai BNT Tabel 14 menyatakan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak C memiliki perbedaan yang signifikan, sehingga ekstrak C merupakan konsentrasi terendah yang yang memiliki perbedaan nyata dari konsentrasi perlakuan untuk menghambat pertumbuhan akteri *E. coli*.

4.4.2.2 Konsentrasi Perlakuan Ekstrak

Data hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan *E. coli* yang diujikan dengan ekstrak kasar metanol pa daging *T. sulcata* dengan taraf konsentrasi yang berbeda A hingga D. Analisis data hasil pengukuran zona bening dari perlakuan ekstrak, bertujuan untuk mengetahui nilai Fhit dan Ftab guna menarik hipotesis anatara H1 atau H0 tanpa kontrol. Adapun data hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan *E. coli* oleh ekstrak dapat dilihat pada Tabel 16 di bawah ini.

Tabel 16. Hasil Pengukuran Zona Bening Pada Konsentrasi Ekstrak

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)						Jumlah	Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6		
A	2,35	2,98	2,48	2,05	1,00	0,65	11,51	1,92
B	3,30	2,05	2,60	3,03	0,93	1,23	13,14	2,19
C	4,33	3,30	3,13	3,18	1,85	2,30	18,09	3,02
D	4,75	5,92	3,55	4,40	2,40	3,30	24,32	4,05

Berdasarkan nilai data Tabel 16 dilakukan analisis varian tunggal untuk menentukan penarikan H1 atau H0. Penarikan ini didasarkan pada hasil perhitungan Ftab yang dibandingkan dengan Fhit, jika Fhit > Ftab maka hipotesis diterima (H1) sedangkan jika Fhit < Ftab maka hipotesis ditolak (H0). Adapun hasil perhitungan analisis varian tunggal dapat dilihat pada pada Tabel 17 di bawah ini.

Tabel 17. Hasil Analisis RAL Pengukuran Diameter Zona Bening Ekstrak

SK	db	JK	KT	Fhit	F1%
Perlakuan	3	16,6	5,53	5,51	4,94
Galat	20	20,1	1,01		
Total	24	36,7			

Hasil analisis Tabel 17 menunjukkan bahwa analisis varian tunggal RAL diketahui bahwa nilai F hit (5,51) lebih besar dari F tab dengan taraf signifikan 1% (4,94) sehingga hipitesis diterima (H1), yaitu perbedaan konsentrasi ekstrak *T. sulcata* berpengaruh terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang berbeda nyata. Hasil data analisis Tabel 16 belum menunjukkan nilai keefektifan taraf konsentrasi ekstrak kasar daging *T. sulcata* dalam menghabat pertumbuhan *E. coli,* sehingga perlu dilakukan uji lanjutan dengan uji BNT taraf signifikasi 1% yang dapat dilihat pada Tabel 18 di bawah ini.

Tabel 18. Analisis Hasil Perhitungan BNT 1%

Perlakuan	Rerata	Notasi	Rumus	Perbandingan Angka
A	1,92	a	B-A	0,27
B	2,19	a	C-A	1,10
C	3,02	B	D-A	2,13
D	4,05	B	D-B	1,86

Nilai BNT 1%= 1,65

Hasil analisis perhitungan BNT1% menunjukkan bahwa pada perlakuan C terjadi perubahan notasi dari perlakuan sebelumnya. Perpindahan notasi a ke notasi b menunjukkan bahwa nilai BNT terjadi pada perlakuan C, hal ini ditarik kesimpulan bahwa nilai konsentrasi ekstrak kasar daging *T. sulcata* yang memiliki perbedaan nyata terendah dari konsentrasi perlakuan dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* terjadi pada perlakuan C.

Data hasil perhitungan nilai BNT taraf signifikasi 1% pada Tabel 15 (konsentrasi perlakuan ekstrak dan kontrol) dan Tabel 18 (konsentrasi perlakuan ekstrak) menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak metanol pa daging *T. sulcata* pada konsentrasi C mempunyai konsentrasi beda nyata terendah menghambat pertumbuhan bakteri, namun tidak sebaik antibakteri Amoxcisilin 150 ppm. Menurut Davis dan Stout (1971), pengukuran zona bening ekstrak daging *T. sulcata* dari konsentrasi A hingga D terhadap *E. coli* dengan diameter rata-rata berkisar 1,92 mm sampai 4,05 mm termasuk dalam kategori lemah.

4.4.3 Sifat Antibakteri Ekstrak Daging *T. sulcata* Pada *E. coli*

Sifat antibakteri merupakan suatu kemampuan antibiotik dalam menghambat atau membunuh bakteri. Menurut Utami (2012), antimikroba secara garis besar dibagi menjadi dua jenis yaitu *bakteriosid* dan *bakteriostatik*. *Bakteriosid* adalah jenis dari antimikroba yang dapat membunuh bakteri, sedangkan *bakteriostatik* merupakan kelompok antimikroba yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri.

Aktivitas antimikroba dapat ditingkatkan dari *bakteriostatik* menjadi bakteriosida jika konsentrasi zat penguji ditingkatkan. Zona bening terbentuk akibat adanya gangguan reaksi esensial pertumbuhan bakteri uji. Reaksi tersebut merupakan satu-satunya cara untuk merusak sel bakteri baik secara fisik ataupun dengan mengganggu proses metabolisme. Kerusakan sel bakteri biasanya ditandai dengan terjainya sintesisa makromolekular seperti protein, asam nukleat, perusakan struktur sel seperti dinding sel atau membran sel (Suwandi, 1992).

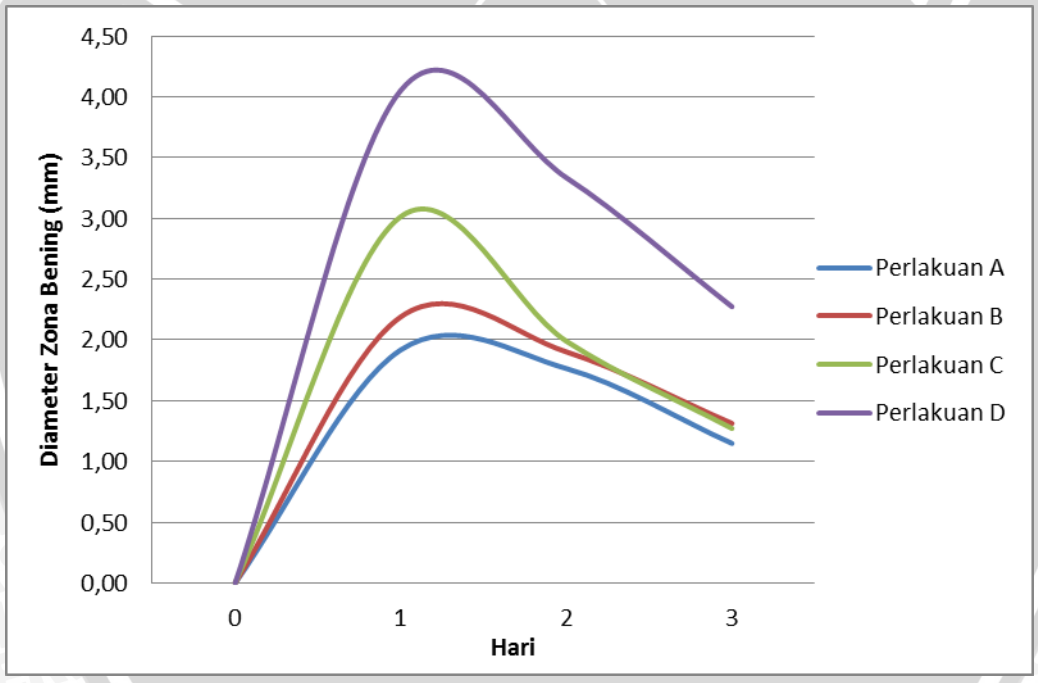
Pengamatan hasil pembentukan zona bening dari ekstrak kasar daging *T. sulcata* terhadap pertumbumbuhan bakteri *E. coli* dalam rentang waktu 2x24 jam mengalami penurunan diseluruh taraf konsentrasi yang diujikan. Data pengamatan perubahan ukuran diameter zona bening pada rentang waktu 3x24 jam dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 19 di bawah ini.

Tabel 19. Data Pengukuran Diameter Zona Bening Hari ke- 1, 2 dan 3

Perlakuan	Diameter Zona Bening (mm) Hari ke-			
	0	1	2	3
A	0,00	1,92	1,77	1,15
B	0,00	2,19	1,90	1,31
C	0,00	3,02	1,99	1,27
D	0,00	4,05	3,34	2,27
E	0,00	14,42	14,46	14,28
F	0,00	0,00	0,00	0,00

Menurut Johnson dan Case (2010), pertumbuhan bakteri uji dalam skala laboratorium dari *lag fase* (fase awal pertumbuhan) hingga *Death fase* (fase kematian) memiliki nilai optimal rentang waktu tumbuh 48 jam, hal ini dipengarui oleh nilai tumbuh bakteri dan volume media. Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini selama 3x24 jam, diasumsikan bahwa lama rentang pengamatan

mencakup seluruh proses fase pertumbuhan bakteri. Hasil pengamatan pembentukan zona bening pada fase waktu 2x24 jam dan 3x24 jam mengalami penurunan jika dibanding dengan hasil pengamatan fase waktu sebelumnya. Penununurunan zona bening ekstrak kasar daging *T. sulcata* terjadi diseluruh perlakuan A, B, C dan D. Pada data Tabel 19 di atas yang paling mengalami penurunan terbesar nilai zona bening adalah ekstrak kasar daging *T. sulcata* perlakuan D, sedangkan nilai zona bening yang stabil adalah Amoxcisilin sebagai kontrol positif. Penurunan zona bening dari ekstrak kasar daging *T. sulcata* terhadap pertumbumbuhan bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 14 di bawah ini.



Gambar 14. Grafik Tren Zona Bening Ekstrak *T. sulcata* Terhadap *E. coli*

Berdasarkan Gambar 14 disimpulkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak kasar *T. sulcata* memiliki potensi sebagai antibiotik yang bersifat *bakteriostatik*, hal ini ditandai dengan penurunan zona bening dari pengamatan hari ke-2 dan hari ke-3. Kenaikan zona bening dari hari ke-0 menuju hari ke-1 dipengarui oleh fase lag dan log pertumbuhan bakteri dan uji tantang konsentrasi ekstrak,

dimana pada fase ini merupakan fase awal pertumbuhan bakteri. Penurunan diameter zona bening pada pengamatan hari ke-2 dan ke-3 diduga disebabkan oleh 2 faktor yaitu zat penguji (ekstrak kasar daging *T. sulcata*) dan objek yang diuji (*E. coli*).

Menurut Utami (2012), menyatakan bahwa pembagian *bakteriostatik* dan bakterisid dari penambahan atau penurunan zona bening ini tidak absolut, tergantung dari konsentrasi obat, spesies bakteri dan fase perkembangannya. Faktor yang diduga menyebabkan penurunan zona bening dari zat penguji ekstrak kasar daging *T. sulcata* yaitu 1. Rendahnya nilai kuantitatif kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak; 2. Rendahnya nilai konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai penguji; 3. Penurunan nilai konsentrasi kadar ekstrak pada *blank disk* akibat penguapan, hal ini sesuai dengan Suwandi (1992), menyatakan bahwa aktivitas antimikroba dapat ditingkatkan dari *bakteriostatik* menjadi bakteriosida jika konsentrasi zat penguji ditingkatkan.

Faktor yang menyebabkan penurunan zona bening dari objek yang diuji (*E. coli*) yaitu 1. Peningkatan jumlah koloni bakteri pada media uji, menurut Angert (2005), nilai kinetika pertumbuhan bakteri *E. coli* akan mengalami pembelahan biner sel secara melintang, sehingga berjumlah 2 kali lipat dari jumlah semula dalam rentang waktu tertentu, sehingga diduga bakteri terus bertambah sedangkan zat uji berkurang di setiap waktunya.; 2. Resistensi bakteri *E. coli* terhadap antibiotik, hal ini sesuai dengan pernyataan Noviana (2004), menyatakan bahwa salah satu bakteri resisiten terhadap antibiotika adalah *E. coli.* Golongan bakteri resisten ini meliputi β-laktam, fosfomisin, dan kuinolon. Resistensi ini terjadi akibat kemampuan adaptasi dan akumulasi bakteri terhadap antibiotik.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian Ekstraksi Senyawa Aktif Daging Siput Bakau (*Terebralia sulcata)* Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut.

1. Senyawa aktif yang ditemukan dalam ekstrak kasar daging *T. sulcata* yaitu alkaloid (kuat), flavonoid (lemah), saponin (sangat kuat), fenol (lemah) dan terpenoid (kuat).
2. Ekstrak kasar daging *T. sulcata* memiliki potensi sebagai antibakteri kategori lemah dengan range rata-rata diameter zona bening 2,28 mm-3,72 mm terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan bersifat sebagai *bakeriostatik*.
3. Konsentrasi 20.000 ppm ekstrak kasar daging *T. sulcata* merupakan konsentrasi terbaik sebagai antibakteri *E. coli* dalam penelitian ini.

5.2 Saran

Adapun saran yang disampaikan peneliti untuk melakukan penelitian sejenis di waktu mendatang adalah sebagai berikut.

1. Melakukan uji fitokimia secara kuantitatif untuk mengatahui nilai akurat kandungan senyawa aktif dari ekstrak kasar daging *T. sulcata.*
2. Membuat perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daging *T. sulcata* 0%-100% untuk mengetahui nilai uji BNT.
3. Melakukan uji antibakteri ekstrak kasar daging *T. sulcata* terhadap bakteri patogen lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Adji, K.. 2008. Evaluasi Kontaminasi Bacteri Patogen pada Ikan Segar di Perairan Teluk Semarang. *Tesis*. Univ. Diponegoro : Semarang.

Agustiningsih, D., Setia B. S., dan Sudarno. 2012. Analisis Kualitas Air Dan Strategi Pengendalian Pencemaran Air Sungai Blukar Kabupaten Kendal. *Jurnal Presipitasi.* Vol. IX, No.2, Hal: 64-71.

Ali, A., 2006. Penapisan Karakterisasi Parsial Senyawa Anti Mikroba dari *T. sulcata* dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Aktif. *Jurnal Penelitian Biologi*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Makasar, Vol. XII, Hal. 63-68.

Andarwulan, N. 2013. Daging Berubah Warna. *Artikel kesehatan*, http://www.femina.co.id diakses 27 April 2016.

Angert, E. R. 2005. Alternatives To Binary Fission In Bacteria. *Jurnal Mikrobiology*, Department of Microbiology: Cornell University, 260A Wing Hall, Ithaca, New York. Vol. III, No. 1. Hal: 214-224.

Antara. 2011. Kementrian Kesehatan Indonesia Pantau Wabah *E. coli*. ANTARANEWS.COM, 5 Juni 2011. http://www.antaranews.com diakses pada 29 Januari 2016.

Ardananurdin, A., Winarsih S. dan Widayat M. 2004. Uji Efektivitas Dekok Bunga Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* Secara In vitro. *Jurnal Kedokteran*. Univ. Brawijaya. Vol. XX, No. 1, Hal: 30-34.

Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum Roxb*.). *Jurnal Farmasi.* Univ. Udayana Bali. Vol. II, No. 4, Hal: 1-7.

Astuti, S. M. 2015. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga Dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Kedoketan Hewan*. BBPMSOH Bogor. Vol. VII, No. 3, Hal: 124-132.

Ayunda, R. 2011. Struktur Komunitas Gastropoda pada Ekosistem Mangrove Di Gugus Pulai Pari, Kepulauan Seribu. *Skripsi*. Program S1 Biologi. Universitas Indonesia : Depok.

Bari, S. B., Mahajan B. M., dan Surana S. J. 2008. Resistance To Antibiotic : A Challenge In Chemotherapy. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. Vol. X, No. 160, Hal: 439-443.

Barnes, R.S.K. 2003. Interaction Between Benthic Molluscs In A Sulawesi Mangal, Indonesia: The Cerithiid Mud-Creeper Cerithum Coralium and

Potamidid Mud-Whelus, *Terebralia spp*. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. Vol. DXXXIII. No.3, Hal: 483-487.

Becton, D. dan Company. 2012. Quality Control Procedures: Mueller Hinton Broth. *Artikel Mikrobiology*. BD, American Type Culture Collection

Berniyanti, T. dan Suwarno. 2007. Karakterisasi Protein Lendir Bekicot (*Achasin*) Isolat Lokal sebagai Faktor Antibakteri. *Jurnal Media Kedokteran Hewan*. Vol. XXII, No. 3, Hal: 139-144.

Boskovic, S. B., Zlatica P., Milun D., Petrovic, Vladimir D., dan Simeon R. 2010. Broiler meat quality: Proteins and lipids of muscle tissue. *African Journal of Biotechnology.* Vol. IX, No. 54, Hal: 9177-9182.

Burrens N. S. dan Clement JJ. 1993. *Biomedical Potensial Marine Natural Product*. Edited by Atawwa (I): Phamaceutical and Bioactive Natural Product Plenum Press, New York and London; 13-14.

Carew.D.P. and Krueger.R.J. 1977. Catharathus roseus tissue culture: The effects of medium modifications on growth and alkaloid production, *Journal Microbiology*. Vol. II, No. 40, Hal: 326-336.

Carey, F. A., 2006. *Organic Chemistry, 6th ed*.. McGraw Hill: New York, 954.

Chian, L. K. 2016. Natural History Museum: Terebralia sulcata. *Artikel The DNA Of Singapore*. http://lkcnhm.nus.edu.sg/dna diakses pada 30 Januari 2016.

Cowan, M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agent. *Journal Clinical Microbiology*. Vol. XII, No.4, hal. 564-582.

Damayanti, E. dan Suparjana T. B. 2007. Efek Penghambatan Beberapa Fraksi Ekstrak Buah Mengkudu Terhadap Shigella Dysenteriae. *Prosiding Seminar Nasional Tehnik Kimia Kejuangan*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman: Purwokerto.

Davis, W. W. dan Stout T. R. 1971. Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. Vol. XXII, No. 4, Hal: 666-670.

Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Deroktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan: Jakarta.

Dewanti, R. dan Hariyadi. 2011. Bakteri Penyebab Diare Mematikan. KOMPAS.COM, 14 Juni 2011. http://health.kompas.com diakses 29 Januari 2016.

Dicosmo. F. And Towers, G.H.N. 1984. Stress and Secondary Metabolism in Cultured Plant Cells, in: Phytochemical Adaptation to Stress. *Artikel Plenum Publishing Co.* Toronto.

Djamarah, S. B. 2002. *Prestasi Belajar Kompetensi Guru*. PT. Usaha Nasional : Surabaya.

Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Cetakan Kelima. Yogjakarta: Kanisius.

Efriyeldi dan Zulkifli. 2015. Kelimpahan Dan Nisbah Kelamin *T. sulcata* (*Telescopium telescopium*) Di Ekosistem Mangrove Desa Darul Aman Kecamatan Rupat Kabupaten Bengkalis. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. Vol. XX, No. 1, Hal: 24-31.

Filianty, F., Raharja S. dan Suryadarman P. 2007. Perubahan Kualitas Nira Tebu *(Saccharum officarum*) selama Penyimpanan dengan Penambahan Akar Kawao (*Millettia sp*) dan Kulit Batang Manggis (*Garcinia mangosiana L*.) sebagai Bahan Pengawet. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian.* Vol. XX, No. 1, Hal: 57-64.

Firmansyah, D. F. 2015. Potensi Anti Biofilm Ekstrak Daun Lamun *Enhalus accoroides* Dari Pantai Paciran, Kabupaten Lamongan. *Skripsi*. Fak. FPIK Univ. Brawijaya: Malang.

Gunawan I. W. G., Gede B. I. G. A. dan Sutrisnayanti N. L. 2008. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri Linn*). *jurnal Kimia MIPA*. Vol. II, No. 1, Hal: 31-39.

Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. ITB press: Bandung.

Hardy. 2016. Mueller Hinton Media. Hardy Diagnostics, IFU. https://catalog.hardydiagnostics.com diakses pada 30 Januari 2016.

Hastuti, U. S. 2012. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. UMM-Press: Malang.

Heath, H. B. dan Reineocius G. 1986. *Flavor Chemistry and Techno-logy*, The AVI, Publishing Co. Inc: Westport.

Hermawan, A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L*.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Disk. *Artikel Ilmiah*. Fak. Kedokteran Hewan, UNAIR, Surabaya.

Houbrick, R.S. 1991. Systematic Review and Functional Morphology of the Mangrove Snails *Terebralia* and *Telescopium* (*Potamididae; Prosobrancia*). *Malacologia journal.* Vol. XXXIII, No. 1, Hal: 289-338.

Johnson, T.R. dan Case, C.L. 2010. Laboratory Experiments in Microbiology 9th edition. Pearson Benjamin Cummings: San Francisco.

Karim, Muhammad Y. 2008. Pengaruh Salinitas Terhadap Metabolisme Kepiting Bakau (*Scylla olivacea*). *Jurnal Perikanan*. Vol. X, No. 1, Hal:53-63.

Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 51. 2004. *Mutu Air Laut Menteri Negara Lingkungan Hidup*. Kementrian RI: Jakarta.

Knobloch,K.H. and Berlin,J. 1983. Influence of phasphate on the formation of the indole alkaloids and phenolic compounds in cell suspension cultures of

Catharanthus roseus. *Jurnal Biotecnology Comparation of enzim activities in product accumulation*. Plant Cell Tissue Organ Cultures. Vol. III, No. 2, Hal: 337-340.

Kristanti, A. N., Aminah N. S., Tanjung M., dan Kurniadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press: Surabaya.

Kusuma, S. A. F. 2010. *Escherichia coli*. *Makalah Tesis Kedokteran Hewan*. Univ. Padjadjaran: Bandung.

Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonodia, Fenilpropanoiada, dan alkaloida. *Artikel USU Respitory*. Univ. Sumatra Utara.

Lopes, G. P., Fabrizio B., Samwel L., Stefano C., Yunus M., Erik K. E. dan Jose´ P. 2009. Ecosystem engineering potential of the gastropod *Terebralia palustris* (Linnaeus, 1767) in mangrove wastewater wetlands – A controlled mesocosm experiment. *Jurnal Environmental Pollution.* Vol. XXII, No. 15, Hal: 258–266.

Marliana, S. D., Venty S. dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz*.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*. Vol. III, No. 1, Hal: 26-31.

Meziane, T. dan Tsuchiya, M., 2002. Organic matter in a subtropical mangrove–estuary subjected to wastewater discharge: origin and utilisation by two macrozoobenthic species. *Journal of Sea Research.* Vol. 47, No.1, Hal: 1–11.

Miranti, D. W. 2015. Uji Potensi Daging siput bakau (*Terebralia sulcata*) Dengan Metode Isolasi Sentrifugasi. *Skrips*i. Fak. FPIK Univ. Brawijaya: Malang.

Miranti, M., Prasetyorini dan Chrys S. 2013. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 30% Dan 96% Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffal*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ekologi*. Vol. XIII, No. 1, Hal: 9-18.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. VII, No. 2, Hal: 361-367.

Munawarah. 2012. *Panduan Memahami Metodologi Penelitian. Cetakan Pertama*. PT.Intimedia: Jakarta.

Nattasya, G. Y.. 2009. *Pengaruh Sedimen Berminyak Terhadap Pertumbuhan Mikroalga Isochrysis Sp*. Departemen Ilmu Dan Teknologi Kelautan. ITB press: Bogor.

Nofiani., R. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. . *Artikel Ilmiah*. Universitas Tanjungpura: Pontianak.

Noviana, H. 2004. Pola kepekaan antibiotika *Escherichia coli* yang diisolasi dari berbagai spesimen klinis. *Jurnal Kedokteran Trisakti*. Vol. XXIII, No. 4, Hal: 122-126.

Nuniek, H. 2006. Isolasi Dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin Dari Batang . Nanas (Ananas comusus L.merr). *Artikel Ilmiah*. Universitas Negeri Surabaya: Surabaya.

Oliver, S. P., Gillespie B. E., Lewis M. J., Ivey S. J., Almeida R. A., Luther D. A., Johnson D. L., Lamar K. C., Moorehead H. D. and . Dowlen H. H. 2001. Efficacy Of A New Premilking Teat Disinfectant Containing A Phenolic Combination For The Prevention Of Mastitis. *Jurnal Phatology Dairy Sci*. Vol. DXXXIV, No. 3, Hal: 1545-1549.

Pape, E., Agnes M., Chomba P. K., dan Ann V. 2008. Size-Dependent Distribution And Feeding Habits Of *Terebralia Palustris* In Mangrove Habitats Of Gazi Bay, Kenya. *Jurnal Internasional Estuari Coastal and Shelf Science*. ELSEIVER. ScienceDirect. Vol VII, No. 76, Hal: 797-808.

Pelczar, M. J. dan Chan E.S.C. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI-Press: Depok.

Peter, K. L. N. dan Sivasothi. 2001. *A Guide To Mangroves of Singapore*. Raffles Moseum of Biodiversity Research. The National University of Singapore & The Singapore Science: Singapore.

Prozanto P., Bavestrello R. dan Cerrano G. 1999. Pharmacologically Active Natural Product from Marine Invertebrates and Associated Microorganism. *Prosiding Seminar Bioteknologi Kelautan* Indonesia I 1998, Jakarta 14-15 Oktober 1998. LIPI, Jakarta, 33-40.

Purwantiningsih, T. I., Yustina Y. S. dan Widodo. 2014. Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan.* Vol. XXXVIII, No. 1, Hal: 59-64.

Radji, M., Anglia P., dan Atiek S. 2010. Deteksi Cepat Bakteri *Escherichia coli* Dalam Sampel Air Dengan Metode Polymerase Chain Reaction Menggunakan Primer 16e1 Dan 16e2. *Jurnal MAKARA Sains*. Vol. XIV, No. 1, Hal: 39-43.

Rahmawati, L. N. A., Siti H., Ratna W., dan Muhammad G. W. 2014. Ekstrak Antibakteri Dari Tanaman Lindur (*Bruguiera Gymnorrhiza*) Sebagai Obat Diare Dalam Upaya Mereduksi Penggunaan Antibiotik Sintetik. *Artikel Penelitian Biologi*. IPB: Bogor.

Rand, G. M dan Petrocelli S. R. 1985. *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Hemisphere Publishing Corporation: Bristol.

Rijayanti, R. P., Sri L., dan Heru F. T. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida L*.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Naskah Publikasi Fakultas Kedokteran Hewa.* Univ. Tanjungpura: Pontianak.

Robinson, R. K., 1985. *Microbiology of Frozen Foods*. Elsevier Applied Science Publisher Ltd: New York USA.

Rukminasari, N., Nadiarti, dan Khaerul A. 2014. Pengaruh Derajat Keasaman (Ph) Air Laut Terhadap Konsentrasi Kalsium Dan Laju Pertumbuhan *Halimeda sp*. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan*. Vol. XXIV, No.1, Hal: 28-34.

Salgeback, J., dan Enrico S. 2006. Constructional Morphology Of Cerithiform Gastropods*. Jurnal Internasional Earth Science*. Palaeontological Society of Japan. Vol. X, No. 3, Hal: 233-259.

Sarip, M., Erismar A. dan Vivi F. 2014. Daya Antimikroba Sari Akar Mambu (*Millettia cericea* W. & A.) Terhadap Pertumbuhan *Bakteri Escherichia coli* Dan *Salmonella typhi*. *Artikel Biologi*. STKIP: Sumatra Barat.

Sastrosupadi. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Kanisius: Yogyakarta.

Simberloff, D. 2010. *Invasive species*. Conservation Biology, Oxford University Press: Inggris

Sulaiman S. dan Noor Z. 1982. Pengaruh Asam Cuka terhadap Rasa Amis dari Daging Ikan Mujair yang Dipanggang. *Jurnal Agritech*. Vol. III, No. 3, Hal: 24-32.

Sumardiono, R. Si. 2015. Efek Komposisi Media Terhaap Kinetika Pertumbuhan *E. coli*. http://www.ocSlidde.com Diakses 8 April 2016.

Sumarto, Desmelati, Dahlia, Bustari H., dan Azwar M. 2011. Penentuan Senyawa Aktif Ekstrak Daging siput bakau (*Terebralia sulcata*) Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Penelitian Perikanan Terumbuk*. Vol. XXXIX No. 2, Hal: 85-96.

Suryandari, S., 1981. *Pengambilan Oleoresin Jahe dengan cara Sol-vent extraction*. BBIH: Bogor.

Sushkova, S., Tatiana M., Abdulmalik B., Irina T., Saglara M., Galina V., Rıdvan K., Inna Z. dan Izzet A. 2015. Analysis of Benzo[a]Pyrene Contamination from an LongTerm Contaminated Soil American. *Journal of Biochemistry and Biotechnology*. Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation. Vol. XII, No. 1, Hal: 1-11.

Suwandi, U., 1992. *Mekanisme Kerja Antibiotik.* Cermin Dunia Kedokteran No.76. Pusat Penelitian dan Pengembangan. PT Kalbe Farma: Jakarta.

Umar, H. 2004. *Metode Riset Ilmu Administrasi*. PT. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.

Utami E. R. 2012. Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi. *Jurnal Antibiotika*. El-Hayah. Vol. I, No. 4, Hal: 191-198.

Winarni F. dan Dinarjati E. P. 2011. Peran Pemerintah Dalam Penanggulangan Pencemaran Air Tanah Oleh Bakteri *E. coli* Di Kota Yogyakarta. *Artikel Penelitian Hukum Lingkunga.* Univ. Gadjah Mada: Yogyakarta.

Wullur, A. C., Jonathan S. dan Adriani N. K. W. 2012. Identifikasi Alkaloid Pada Daun Sirsak (*Annona muricata L*.). *Artikel Kesehatan*. Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Manado: Manado.

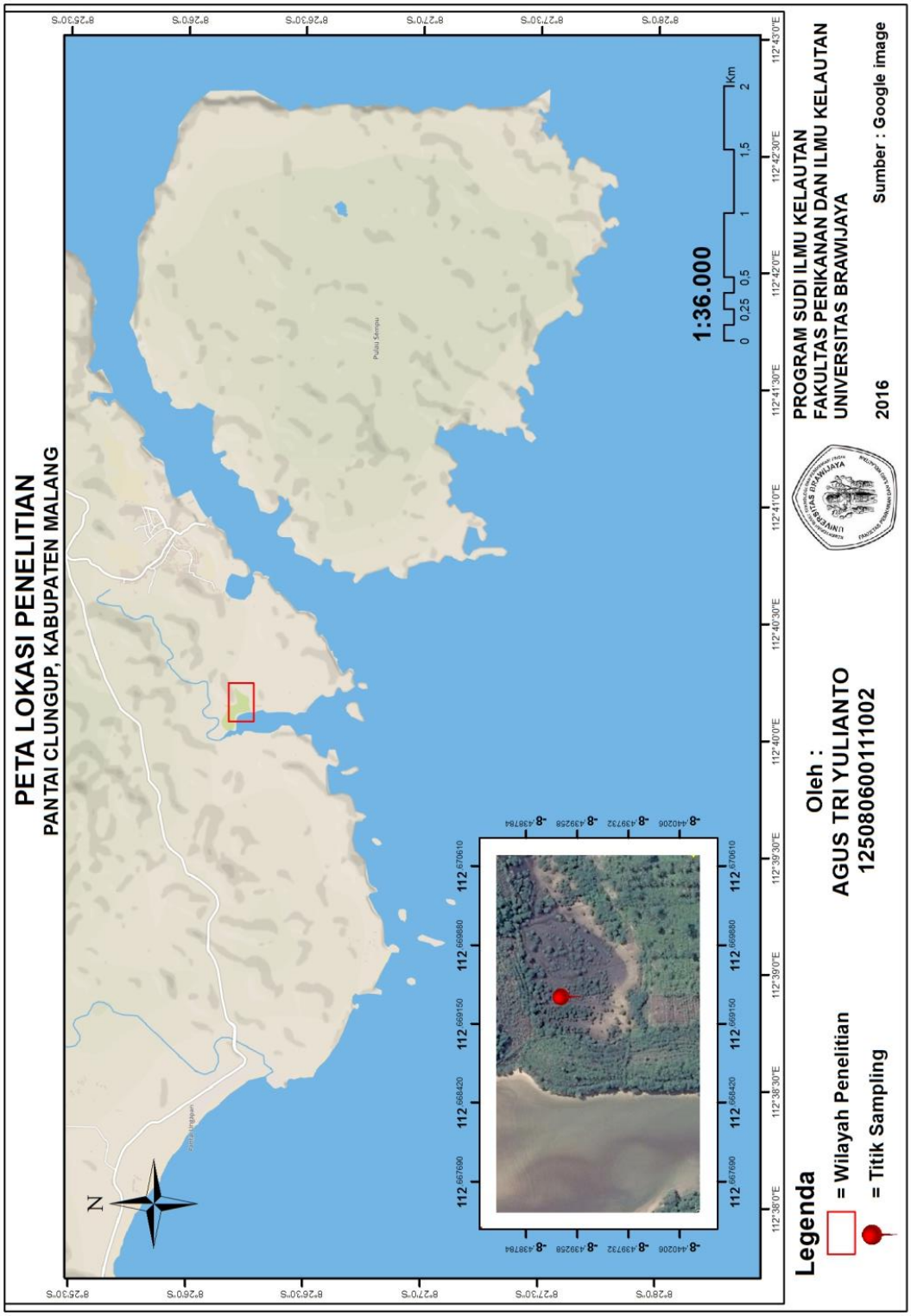
Yingst, S. L., Magdi D. S. dan Stephen A. F. 2006. Classifying *Escherichia coli*. *Jurnal List Emerg Infect Dis*. US Naval Medical Research Unit. Vol. XII, No. 8, Hal: 1297-1299.

Yurisma, Enta H. Nurlita A., dan Gunanti M. 2013. Pengaruh Salinitas yang Berbeda terhadap Laju Konsumsi Oksigen Ikan Gurame (Osprhonemus gouramy) Skala Laboratorium. *Jurnal Sains Dan Seni*. Vol.I, No.1, Hal: 1-4.

Yusriah dan Nengah Dwianita Kuswytasari. 2013. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas . *Artikel Protease Penicillium sp*. ITS: Surabaya.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Peta Lokasi Penelitian



Lampiran 2. Baku Mutu Air Laut Untuk Biota Laut

Lampiran III: Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup
Nomor : 51 Tahun 2004
Tanggal : 8 April 2004

BAKU MUTU AIR LAUT UNTUK BIOTA LAUT

No.	Parameter	Satuan	Baku mutu
	FISIKA		
1.	Kecerahan[a]	m	coral: >5 mangrove: - lamun: >3
2.	Kebauan	-	alami[3]
3.	Kekeruhan[a]	NTU	<5
4.	Padatan tersuspensi total[b]	mg/l	coral: 20 mangrove: 80 lamun: 20
5.	Sampah	-	nihil [1)(b)]
6.	Suhu[c]	°C	alami[3)(c)] coral: 28-30[(c)] mangrove: 28-32 [(c)] lamun: 28-30[(c)]
7.	Lapisan minyak [b]	-	nihil [1)(b)]
	KIMIA		
1.	pH[d]	-	7 - 8,5[(d)]
2.	Salinitas[e]	‰	alami[3)(e)] coral: 33-34[(e)] mangrove: s/d 34 [(e)] lamun: 33-34[(e)]
3.	Oksigen terlarut (DO)	mg/l	>5
4.	BOD5	mg/l	20
5	Ammonia total (NH_3-N)	mg/l	0,3
6.	Fosfat (PO_4-P)	mg/l	0,015
7.	Nitrat (NO_3-N)	mg/l	0,008
8.	Sianida (CN^-)	mg/l	0,5
9.	Sulfida (H_2S)	mg/l	0,01
10.	PAH (Poliaromatik hidrokarbon)	mg/l	0,003
11.	Senyawa Fenol total	mg/l	0,002
12.	PCB total (poliklor bifenil)	µg/l	0,01
13.	Surfaktan (deterjen)	mg/l MBAS	1
14	Minyak & lemak	mg/l	1
15.	Pestisida[f]	µg/l	0,01
16.	TBT (tributil tin)[g]	µg/l	0,01
	Logam terlarut:		
17.	Raksa (Hg)	mg/l	0,001
18.	Kromium heksavalen (Cr(VI))	mg/l	0,005
19.	Arsen (As)	mg/l	0,012

Lampiran 3. Nilai Rendemen Ekstrak Kasar *T. sulcata*

Pelarut	Massa		Volume Pelarut	Lama Ekstraksi	Ekstrak	Rendemen
	Basah bercangkang	Kering Serbuk Halus				
Metanol pa	9.870 gr	250 gr	1000 ml	3x24 jam	22,22 gr	0,225 %

Berat rerata *T. sulcata* = 8,15 gr

Panjang rerata *T. sulcata* = 4,38 cm

Diameter rerata *T. sulcata* = 1,88 cm

Berat sampel yang digunakan = $\frac{9870}{8,15}$ = 1.200, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa perkiraan jumlah sampel individu *T. sulcata* yang digunakan dalam penelitian adalah 1.200 ekor.

Lampiran 4. Rasio Pembuatan Larutan Mc Farland

Skala Mc Farland	1.175% $BaCl_2$ (ml)	1% H_2SO_4 (ml)
0.5	0.05	9.95
1	0.1	9.9
2	0.2	9.8
3	0.3	9.7
4	0.4	9.6
5	0.5	9.5
6	0.6	9.4
7	0.7	9.3
8	0.8	9.2
9	0.9	9.1
10	1.0	9.0

Lampiran 5. Hasil Pengukuran Absorbansi dan Regresi Standart Mc Farland

Panjang gelombang 600,0 nm

Sampel No.	Keterangan	Absorbansi	Conc. (ppm)
1	Mc F 1 CFU	2,051	313,02
2	Mc F 0,5 CFU	1,407	214.84
3	Mc F 2 CFU	2,569	405,86
4	Mc F 3 CFU	2,834	432,64
5	*E. coli*	1,175	179,36

SUMMARY OUTPUT

Regression Statistics	
Multiple R	0,942117
R Square	0,887584
Adjusted R Square	0,831376
Standard Error	0,265911
Observations	4

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	1	1,116569	1,116569	15,79108	0,057883
Residual	2	0,141418	0,070709		
Total	3	1,257987			

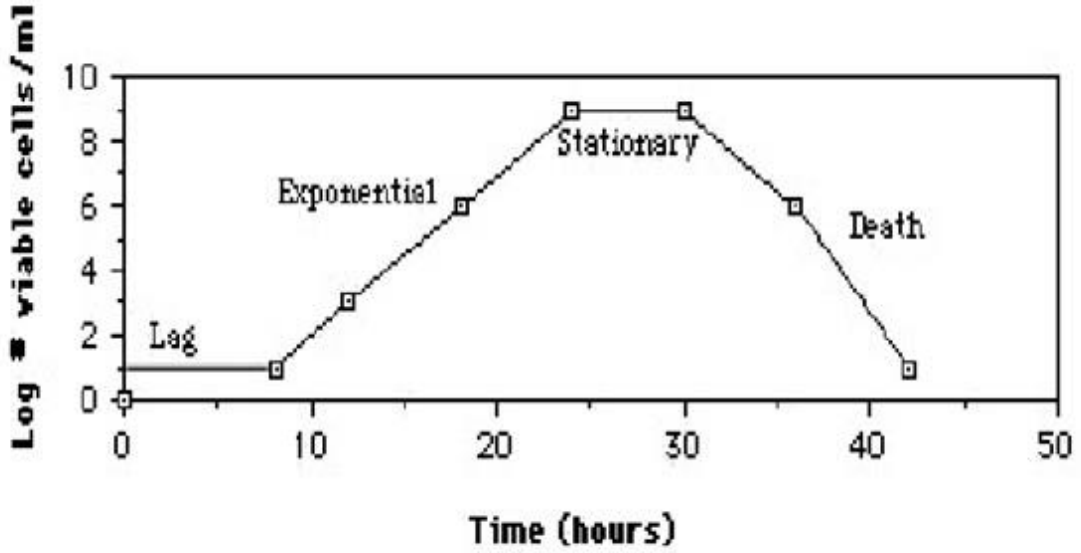
	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*	*Lower 95,0%*	*Upper 95,0%*
Intercept	1,343559	0,261366	5,140537	0,035822	0,218994	2,468125	0,218994	2,468125
Sampel	0,550271	0,138475	3,973799	0,057883	-0,04554	1,14608	-0,04554	1,14608

Hasil pengukuran nilai absorbansi standart Mc Farland 0,5-3 CFU didapatkan nilai regresi y=1,34+0,55x.

Lampiran 6. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening

Pengamatan Diameter Zona Bening Hari ke-1								
Perlakuan	Uangan 1	Uangan 2	Uangan 3	Uangan 4	Uangan 5	Uangan 6	Total	Rerata
A	2,35	2,98	2,48	2,05	1,00	0,65	11,51	1,92
B	3,30	2,05	2,60	3,03	0,93	1,23	13,14	2,19
C	4,33	3,30	3,13	3,18	1,85	2,30	18,09	3,02
D	4,75	5,92	3,55	4,40	2,40	3,30	24,32	4,05
E	14,25	15,10	15,00	14,20	13,80	14,18	86,53	14,42
F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pengamatan Diameter Zona Bening Hari ke-2								
A	2,05	1,88	2,68	1,63	1,05	1,30	10,59	1,77
B	2,00	1,80	2,18	3,00	0,25	2,18	11,41	1,90
C	2,90	1,73	2,35	2,78	1,33	0,85	11,94	1,99
D	4,40	4,90	3,30	4,03	2,13	1,25	20,01	3,34
E	14,30	15,00	14,70	14.25	14,10	14,21	72,31	14,46
F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pengamatan Diameter Zona Bening Hari ke-3								
A	0,88	1,45	1,75	1,23	0,80	0,78	6,89	1,15
B	1,20	1,25	1,50	1,93	0,10	1,90	7,88	1,31
C	2,00	0,90	1,10	2,20	0,85	0,58	7,63	1,27
D	3,08	3,08	2,15	2,55	1,90	0,88	13,64	2,27
E	14,20	14,80	14,60	14,08	13,90	14,10	85,68	14,28
F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Lampiran 7. Fase Pertumbuhan Bakteri



Lampiran 8. Dokumentasi Pengambilan Sampel Di Pantai Clungup

a) Penentuan lokasi pengambilan sampel

b) Menentukan kriteria sampel *T. sulcata*

c) Pengukuran panjang cangkang *T. sulcata*

d) Pengukuran Diameter cangkang *T.sulcata*

e) Pencarian *T.sulcata*

f) Pengambilan *T.sulcata*

g) Pengumpulan *T.sulcata*

h) Persiapan pulang

Lampiran 9. Dokumentasi Preparasi Sampel

a) Persiapan sampel *T. sulcata*

b) Pemisahan cangkang dan daging *T. sulcata*

c) Pengeringan sampel *T. sulcata*

d) Penimbangan sampel *T. sulcata*

e) Penghalusan sampel *T. sulcata*

f) Penyayakan sampel *T. sulcata*

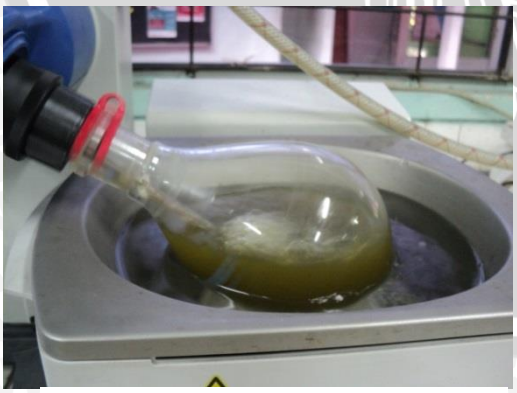
Lampiran 10. Dokumentasi Ekstraksi Sampel

a) Penimbangan sampel serbuk halus *T. sulcata*

b) Pencampuran pelarut dan sampel *T. sulcata*

c) Ekstraksi dengan meserasi (perendaman)

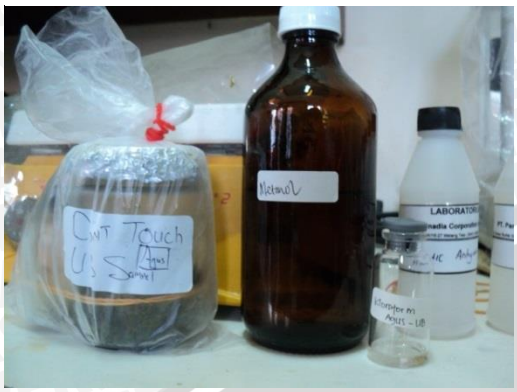
d) Pengadukan proses ekstraksi



e) Proses evaporasi filtrrat sampel *T. sulcata*

f) Penimbangan sampel pasta *T. sulcata*

Lampiran 11. Dokumentasi Uji Fitokimia



a) Persiapan sampel dan bahan

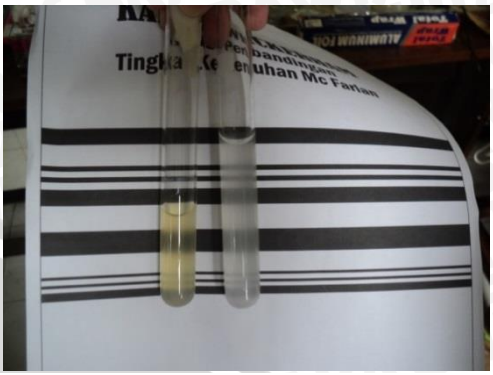
b) Pereaksi uji fitokimia

c) Pencampuran bahan dan pereaksi

d) Pengamatan dan hasil perubahan reaksi uji fitokimia

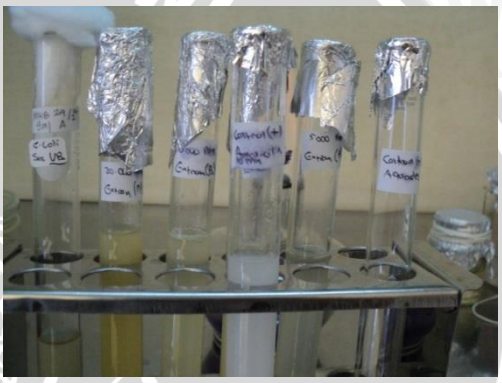
Lampiran 12. Dokumentasi Uji Antibakteri

a) Kultur bakteri *E. coli*



b) Visualisasi padatan bakteri *E. coli* dengan standart Mc Farland 0,5

c) Penimbangan sampel pasta *T. sulcata*



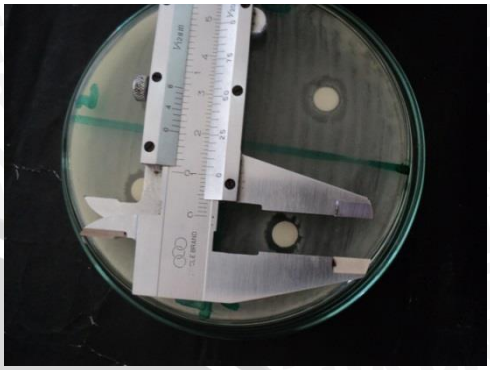
d) Pembuatan konsentrasi perlakuan sampel *T.sulcata*

e) Pembuatan media uji suspensi *E. coli*

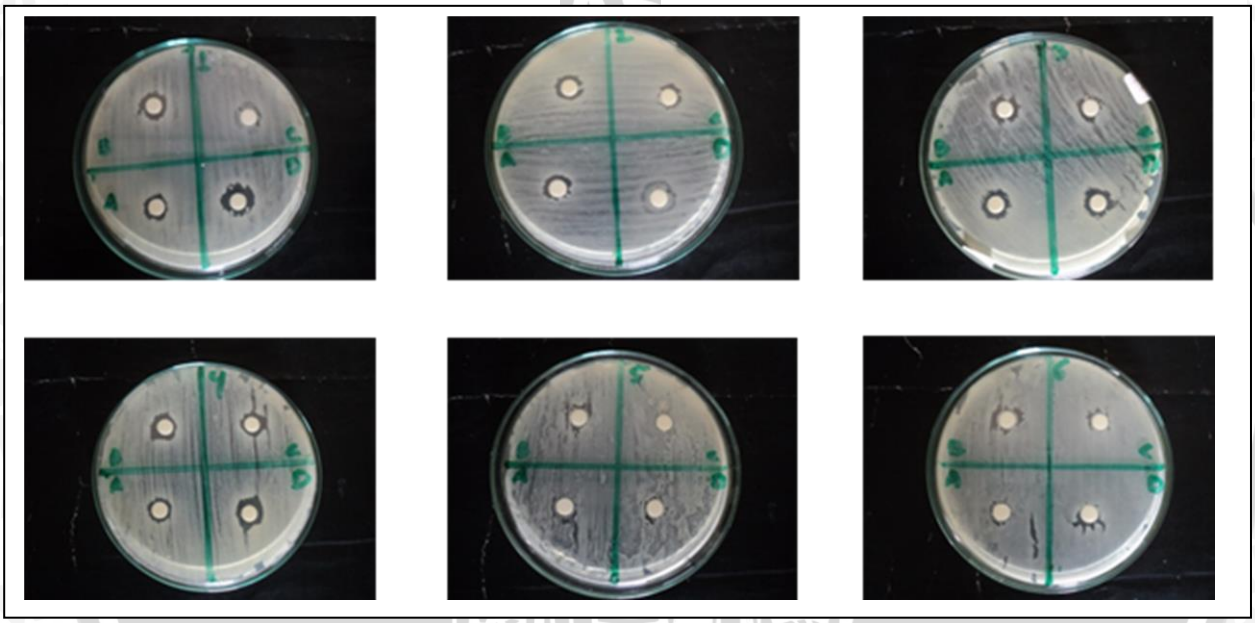
f) Injeksi perlakuan konsentrasi ekstrak T.sulcata pada media uji

Lampiran 13. Dokumentasi Pengamatan Zona Bening

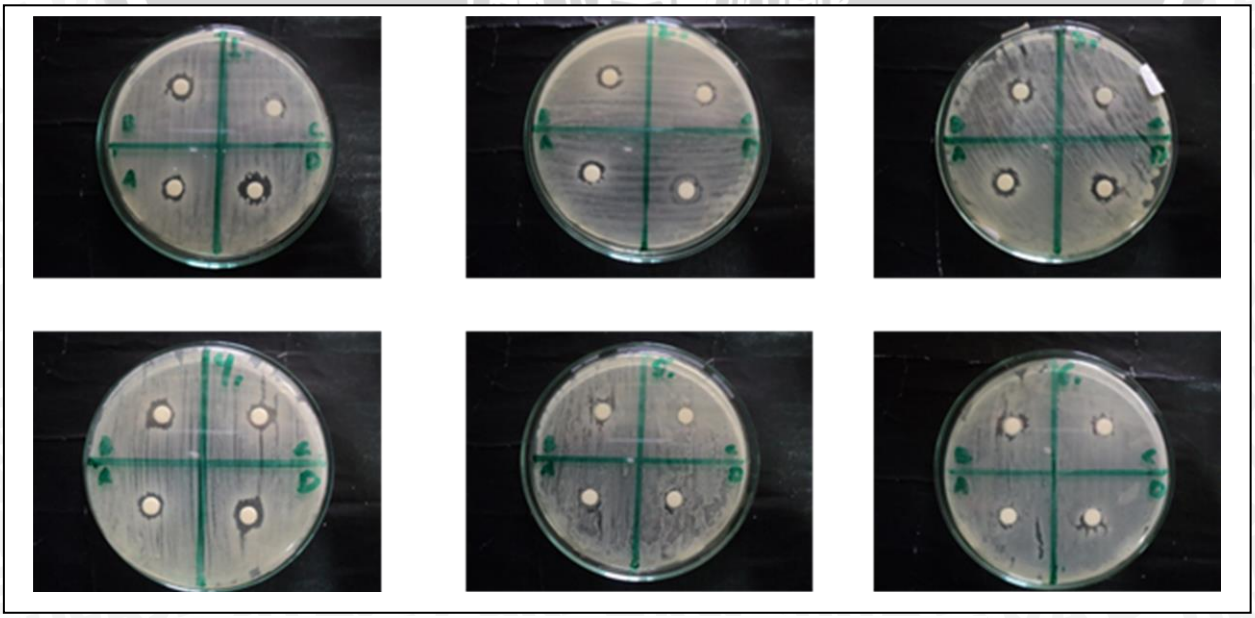
a) Pengamatan zona bening



b) Pengukuran diameter zona bening

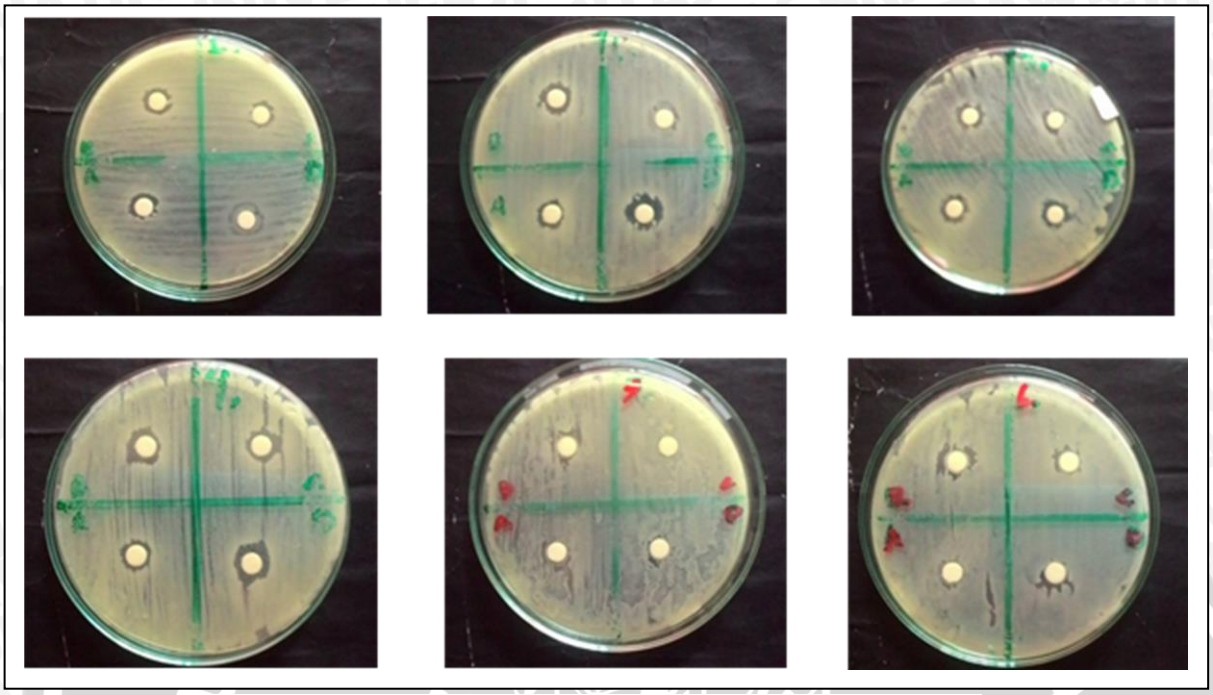


c) Pengamatan diameter zona bening hari ke-1



d) Pengamatan diameter zona bening hari ke-2

Lampiran 13. Lanjutan



e) Pengamatan diameter zona bening hari ke-3