

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Teh *Sargassum cristaefolium*

Ekstraksi teh *Sargassum cristaefolium* dilakukan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang terkandung didalam teh *Sargassum cristaefolium* dengan metode maserasi tunggal. Metode maserasi dipilih karena metode ini murah dan mudah dilakukan. Senyawa yang terkandung dalam teh *Sargassum cristaefolium* dikhawatirkan tidak tahan terhadap panas, sehingga metode maserasi dinilai lebih sesuai untuk digunakan. Maserasi dilakukan dengan merendam 100 gr teh *Sargassum cristaefolium* yang telah dihaluskan dalam pelarut n-heksan (1:5 b/v) selama 2x24 jam.

Penggunaan pelarut n-heksan juga digunakan dalam penelitian Siregar *et al.*, (2012), Septiani dan Ari (2012), dan Yuniyanto *et al.*, (2014), dalam mengisolasi senyawa-senyawa bioaktif pada rumput laut cokelat *Sargassum sp.* baik dengan maserasi tunggal ataupun secara bertingkat. Didukung oleh Munawaroh dan Handayani (2010), heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ebtananto (2010) menyatakan bahwa senyawa antibakteri yang diekstraksi dengan pelarut heksan menghasilkan diameter zona penghambatan yang lebih besar jika dibandingkan dengan pelarut methanol dan acetone.

Pelarut n-heksan yang dituangkan kedalam *beaker glass* berisi teh *Sargassum cristaefolium* mengalami perubahan warna yang semula bening menjadi berwarna hijau bening, hal ini diduga senyawa yang terdapat pada teh *Sargassum cristaefolium* kemungkinan tertarik keluar oleh pelarut n-heksan sesuai dengan kepolaran senyawa yang terkandung dalam teh *Sargassum cristaefolium*. Setelah proses maserasi, dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas *Whatman no.1* sehingga didapatkan filtrat. Filtrat hasil maserasi yang diperoleh

berwarna hijau bening. Filtrat kemudian disentrifius dan disaring kembali dengan menggunakan kertas *Whatman* no.1 untuk memisahkan filtrat dengan supernatan.

Hasil maserasi yang telah dilakukan penyaringan kemudian ditampung di botol kaca dan ditutup rapat agar tidak mudah menguap. Untuk mendapatkan senyawa ekstrak murni langkah selanjutnya dilakukan proses evaporasi untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh senyawa ekstrak kasar murni yang berbentuk seperti pasta. Ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* yang didapat digunakan untuk uji antibakteri dengan tujuan untuk mengetahui efektifitasnya dalam menghambat atau membunuh bakteri, sedangkan LC_{50} dilakukan untuk mengetahui sifat ketoksikan dari ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*, serta dilakukan identifikasi terhadap senyawa yang terkandung didalam ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan menggunakan instrumen GC-MS. Hasil ekstrak kasar murni setelah dilakukan evaporasi dan prosesnya dapat dilihat pada gambar 3.



a.



b.

Gambar 3. Proses evaporasi hasil maserasi (a), Ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* setelah dievaporasi

4.2 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram)

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan bakteri gram positif (*Streptococcus pyogenes*) dan bakteri gram negatif (*Aeromonas salmonicida*). Menurut Jawetz *et al.*, (1996), menyebutkan bahwa *Streptococcus pyogenes* adalah bakteri patogen utama manusia yang berkaitan dengan invasi lokal atau sistemik dan gangguan imunologik setelah infeksi *Streptococcus*, bakteri ini dapat menyebabkan penyakit epidemik antara lain *Scarlet fever*, *erisipelas*, radang tenggorokan, *febris puepuralis*, *rheumatic fever*, dan bermacam-macam penyakit lainnya. Sedangkan *Aeromonas salmonicida* umumnya menyebabkan *furunculosis* pada ikan salmon. *Furunculosis* adalah salah satu dari sekelompok penyakit septicemia (Richards dan Robert, 1978).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode uji cakram. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini dibuat bervariasi dengan Konsentrasi yang digunakan mengacu pada metode Kirby-bauer (1966) yaitu berkisar 10%, 20%, dan 30%. Perbedaan konsentrasi pada uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar teh rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* dilakukan untuk mengetahui efektifitas dari konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dan *Aeromonas salmonicida*.

Efektivitas konsentrasi yang digunakan pada pengujian pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* ditentukan dengan luas zona bening yang menunjukkan semakin luas zona bening yang dihasilkan, maka semakin baik konsentrasi yang diberikan. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 4.

Tabel 3. Aktifitas anti bakteri ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* terhadap bakteri uji *Streptococcus pyogenes* dan *Aeromonas salmonicida*

Bakteri uji	Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
		1	2	3		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10%	6,09	5,38	6,89	18,36	6,12
	20%	6,21	8,81	6,97	21,08	7,33
	30%	11,67	14,27	12,89	38,83	12,94
	Total				79,18	26,39
<i>Aeromonas salmonicida</i>	10%	2,05	2,61	2,99	7,65	2,25
	20%	3,20	3,17	3,60	9,97	3,32
	30%	7,27	6,67	8,89	22,83	7,61
	Total				40,45	13,48



a.



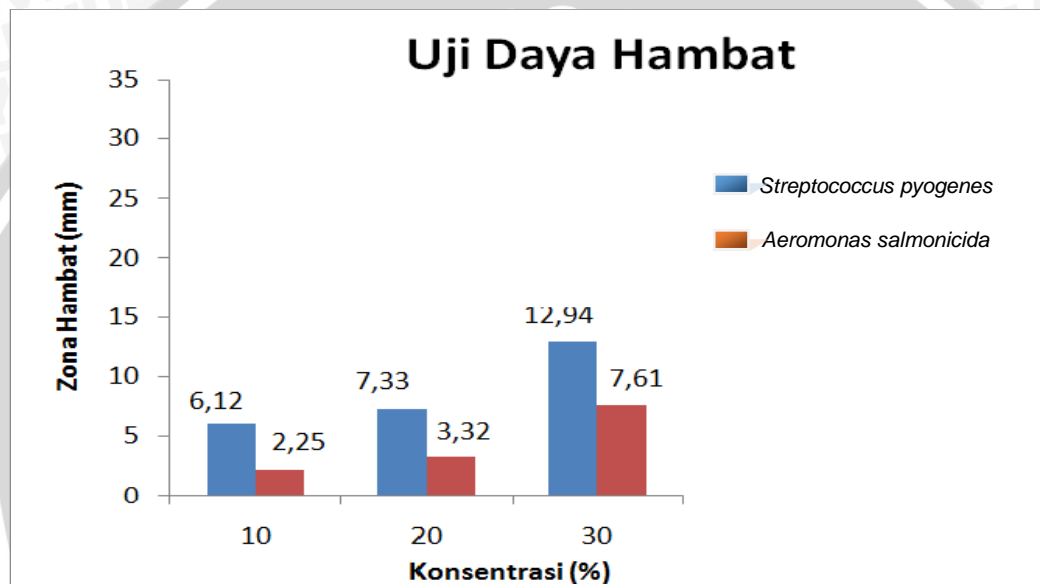
b.

Gambar 4. Hasil terbaik uji aktivitas antibakteri terhadap (a) *Streptococcus pyogenes* konsentrasi 30 % dan (b) *Aeromonas salmonicida* konsentrasi 30%

Berdasarkan data yang diperoleh pada tabel 3 dan gambar 4, uji daya hambat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* menunjukkan hasil positif dalam menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Aeromonas salmonicida*. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram yang telah diberi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Lay (1994) bahwa kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

Pada uji daya hambat ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* diperoleh hasil zona bening yang terbentuk pada konsentrasi 10% didapatkan rata-rata sebesar 6,12 mm,

konsentrasi 20% didapatkan rata-rata sebesar 7,33 mm, dan konsentrasi 30% didapatkan rata-rata sebesar 12,94 mm. Sedangkan uji daya hambat pada bakteri *Aeromonas salmonicida* didapatkan hasil zona bening pada konsentrasi 10% didapatkan rata-rata sebesar 2,25 mm, konsentrasi 20% didapatkan rata-rata sebesar 3,32 mm, dan konsentrasi 30% didapatkan rata-rata sebesar 7,61 mm. Grafik zona hambat bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Aeromonas salmonicida* disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Zona hambat bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Aeromonas salmonicida* dengan konsentrasi yang berbeda

Gambar 5 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* adalah pada konsentrasi 30% yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 12,94 mm. Sedangkan untuk menghambat *Aeromonas salmonicida* adalah pada konsentrasi 30% yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 7,61 mm. Dari data diatas dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Peleczar dan Chan (1986), Nugraha (2014), dan Pratama (2015), yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan

antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Sesuai dengan pernyataan Davis dan Stout (1971), yang menyebutkan bahwa bila memiliki daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti memiliki kekuatan antibakteri sangat kuat, bila daerah hambatan yang dimilikinya berkisar antara 10-20 mm berarti sedang dan bila daerah hambatannya 5 mm atau kurang dari 5 mm maka aktivitas antibakteri tergolong lemah, sehingga untuk ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan konsentrasi 30% digolongkan memiliki kemampuan aktivitas antibakteri sedang.

Diketahui pula dari data tersebut bahwa daya hambat pada *Aeromonas salmonicida* lebih besar daripada *Streptococcus pyogenes*. Hal ini karena *Aeromonas salmonicida* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki sifat kurang sensitif terhadap komponen antibakteri. Struktur penyusun dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa peptidoglikan dan lapisan dalam berupa lipopolisakarida, sehingga mempersulit senyawa antibakteri masuk kedalam selnya (Pelczar dan Chan, 1986). Oleh karena itu, bakteri *Aeromonas salmonicida* lebih tahan terhadap ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dibandingkan dengan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

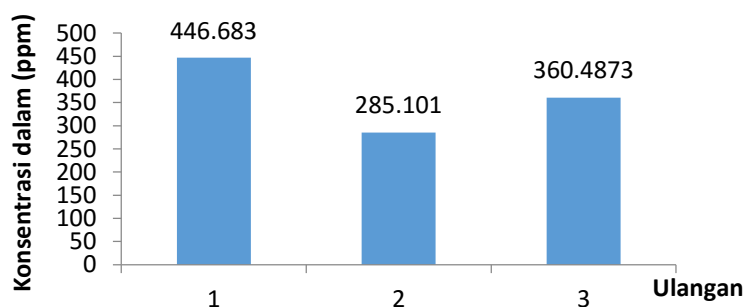
Iskandar *et al.*, (2009), menyebutkan respon hambatan mikroba gram positif lebih kuat dibandingkan mikroba gram negative, kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun dinding sel antara mikroba gram positif dan gram negatif. Dinding sel mikroba gram positif banyak mengandung teikoat dan asam teikoronat serta molekul polisakarida. Ditambahkan oleh Irianto (2006), komponen kimia ini melindungi sel dari kegiatan lisis enzim, sedangkan zat-zat lain menentukan reaksi sel pada pengecatan gram dan ada pula yang menarik dan mengikat bakteriofage.

Faktor-faktor lain yang juga dianggap dapat mempengaruhi antara lain kepekaan pertumbuhan bakteri, reaksi antara bahan aktif dengan medium dan temperatur inkubasi. Beberapa faktor yang juga mempengaruhi hal ini antara lain adalah pH lingkungan, komponen media, stabilitas obat, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganisme (Brooks, *et al.*, 2005). Perhitungan analisis ragam (ANOVA) uji cakram bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Aeromonas salmonicida* disajikan pada lampiran 4 dan lampiran 5.

4.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk mengetahui nilai LC_{50} ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan hewan uji *Artemia salina* Leach. Metode BSLT digunakan untuk meneliti toksisitas ekstrak fungi, tumbuhan, logam berat, pestisida, substansi toksin dari *cyanobacteria* (Carballo *et al.*, 2002). Harborne (1994), menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi suatu ekstrak maka kematian hewan uji akan semakin tinggi. Kematian hewan uji disebabkan oleh sifat toksik dari ekstrak yang terlarut dalam media hidup hewan uji tersebut. Toksisitas suatu bahan juga dipengaruhi jenis ekstraknya dan komponen yang terdapat dalam ekstrak.

Hasil uji toksisitas ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan hewan uji *Artemia salina* leach. didapatkan nilai LC_{50} sebesar 346,0904ppm. Hasil nilai LC_{50} tersebut menunjukkan bahwa 50% kematian hewan uji *Artemia salina* leach. pada konsentrasi larutan ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pada saat konsentrasi 346,0904 ppm. Pengolahan dan perhitungan analisis probit uji toksisitas dapat dilihat pada Lampiran 7. Grafik nilai LC_{50} hasil uji toksisitas disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik nilai LC_{50} hasil uji toksisitas ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*

Dari grafik di atas dapat diketahui nilai LC_{50} paling tinggi yaitu pada ulangan 1 sebesar 446,683 ppm, pada ulangan ke tiga sebesar 360,48 ppm dan nilai LC_{50} erendah pada ulangan ke dua sebesar 285,101 ppm, sehingga didapat nilai rata-rata LC_{50} dari ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* sebesar 346,0904 ppm.

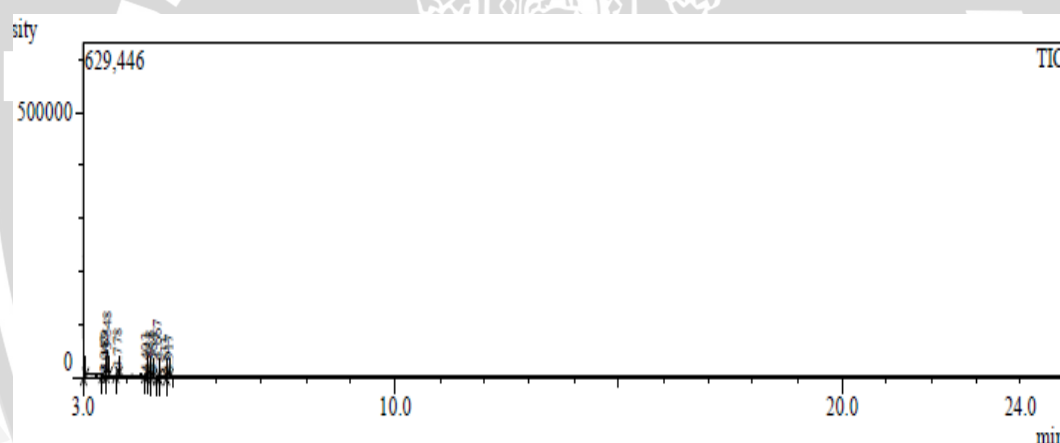
Tingkat toksisitas ekstrak dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} dari suatu senyawa tersebut. Suatu ekstrak dianggap sangat toksik bila memiliki nilai LC_{50} dibawah 30 ppm, dianggap toksik bila memiliki nilai LC_{50} 30 – 1000 ppm, dan dianggap tidak toksik bila nilai LC_{50} di atas 1000 ppm. Semakin kecil harga LC_{50} semakin toksik suatu senyawa (Mayeret *al.*, 1982). Berdasarkan dari pernyataan tersebut maka ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dikategorikan kedalam senyawa yang bersifat toksik. Hal ini ditunjukkan dari nilai LC_{50} yang diperoleh yaitu sebesar 346,0904 ppm. Untuk perhitungan konsentrasi ekstrak kasar yang digunakan disajikan pada lampiran 6.

Taraf variasi konsentrasi larutan ekstrak pada penelitian ini menunjukkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. semakin tinggi variasi beban konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula tingkat kematian hewan uji tersebut. Hasil yang sama juga didapatkan pada penelitian Agustin (2013), dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* melaporkan bahwa

semakin besar konsentrasi suatu ekstrak maka kematian hewan uji akan semakin tinggi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sriwahyuni (2010), melaporkan bahwa semakin besar nilai konsentrasi masing-masing ekstrak maka mortalitas terhadap *Artemia salina leach*. juga semakin besar.

4.4 Identifikasi Senyawa Bioaktif dengan GC-MS

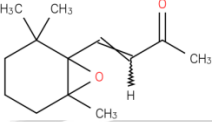
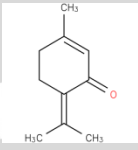
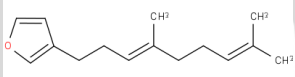
Uji GC-MS ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dilakukan di Laboratorium SENTRAL FMIPA Universitas Negeri Malang. Adapun hasil dari GC-MS adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu senyawa. Spektra Gas Kromatografi ekstrak *Sargassum cristaefolium* disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Spektra Gas Kromatografi Ekstrak *Sargassum cristaefolium*

Hasil analisis kandungan senyawa pada ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan instrument GC-MS yang dilakukan di laboratorium Central FMIPA Universitas Negeri Malang menunjukkan ada 10 puncak, 3 diantara senyawa tersebut diduga berpotensi sebagai antibakteri. Hasil senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Senyawa Hasil Analisis GC-MS Yang Diduga Berpotensi Sebagai Antibakteri

No	Senyawa Dugaan	Rumus Struktur	Golongan	Berat Molekul
1.	β -ionone 5,6-epoxide	 $C_{13}H_{20}O_2$	Terpenoid	208
2.	piperitenone	 $C_{10}H_{14}O$	Terpenoid	150
3.	Dendrolasin	 $C_{15}H_{22}O$	Terpenoid	218

Dari ketiga senyawa yang berhasil teridentifikasi dan diduga mempunyai kemampuan sebagai antibakteri jika diurutkan sesuai persentase adalah senyawa β -ionone 5,6-epoxide, piperitenone, dan *Dendrolasin*. Ketiga senyawa ini termasuk kedalam golongan terpenoid. Sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Septiani dan Ari (2012), hal ini kemungkinan disebabkan karena dalam strukturnya terpenoid mempunyai bagian polar dan non polar, tetapi bagian non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti n-Heksan. Ditambahkan oleh Sumarsono *et al.*, (2015), bahwa alga cokelat *Sargassum myriocystum* J. G. Agardh, *Turbinaria omata* (Turner) J. G. Agardh, *Turbinaria decurrens* bory yang diekstraksi dengan pelarut heksan mengandung terpenoid.

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999). Peleczar dan Chan (1988), menambahkan bahwa kerja antibakteri yaitu dengan merusak dinding sel dengan menghambat pembentukan dan mengubahnya setelah selesai terbentuk, mengganggu permeabilitas sel dengan merusak membran sel. Fungsi membran sel adalah mempertahankan bahan-bahan dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Adanya kerusakan pada membran ini mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, merubah molekul protein dan asam nukleat yaitu dengan mendenaturasikan protein dan asam nukleat sehingga kerusakan sel tidak dapat diperbaiki lagi karena hidup suatu sel tergantung pada molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim dengan mengganggu reaksi biokimiawi, menghambat sintesis asam nukleat dan protein, gangguan pada pembentukan atau fungsi-fungsi DNA, RNA dan protein dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel, karena zat-zat tersebut memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel.

Grafik puncak yang dihasilkan dari uji GCMS yang dilakukan peak yang ditampilkan sangat tipis, diduga senyawa yang terkandung pada ekstrak kasar teh rumput laut cokelat tidak ter volatil secara sempurna sehingga yang senyawa yang terkandung didalam ekstrak kasar teh rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* tidak terbaca dengan sempurna. Hasil identifikasi senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak kasar teh rumput laut cokelat *Sargassum cristaefolium* yang dimaserasi dengan pelarut n-Heksan dengan menggunakan instrument uji GC-MS dapat dilihat pada lampiran 8.

Dari hasil penelitian uji fitokimia ekstrak rumput laut cokelat *Sargassum Sp.* yang dilakukan oleh Santi *et al.*, (2014), menunjukkan bahwa *Sargassum Sp.* mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid, dan flavonoid. Ditambahkan oleh Siregar *et al.*, (2012), keaktifan biologis dari senyawa alkaloid disebabkan karena adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Adanya gugus basa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa-senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan juga DNA bakteri yang merupakan penyusun utama inti sel yang merupakan pusat pengaturan segala kegiatan sel.

Reaksi ini terjadi karena secara kimia suatu senyawa yang bersifat basa akan bereaksi dengan senyawa asam dalam hal ini adalah asam amino karena sebagian besar asam amino telah beraksi dengan gugus basa dari senyawa alkaloid. Perubahan susunan asam amino ini jelas akan merubah keseimbangan genetik pada asam DNA sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA pada inti sel bakteri akan mendorong terjadinya lisis pada inti sel, sehingga akan terjadi kerusakan sel. Kerusakan sel mengakibatkan sel-sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme sehingga akan mengalami lisis atau kerusakan (Siregar *et al.*, 2012).

Sabir (2005), dalam penelitiannya menjelaskan bahwa senyawa flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan beberapa mekanisme yang berbeda, antara lain flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel (Assani, 1994). Senyawa steroid / triterpenoid juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa steroid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap

sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri.

Tanin memiliki persenyawaan fenol yang memiliki gugus hidroksil di dalamnya maka mekanisme dalam menginaktifkan bakteri dengan memanfaatkan perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Apabila sel bakteri semakin banyak mengandung lipid maka dibutuhkan konsentrasi yang tinggi untuk membuat bakteri tersebut lisis (Siregar *et al.*, 2012). Untuk dokumentasi proses penelitian secara keseluruhan disajikan pada lampiran 9.

