

**UJI AKTIFITAS EKSTRAK KERANG DARAH (*Anadara granosa*)
SEBAGAI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI *Vibrio Cholerae***

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

Oleh :
HAFID LANA KURNIAWAN
NIM. 105080300111004



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2016**

**UJI AKTIFITAS EKSTRAK KERANG DARAH (*Anadaragrana*)
SEBAGAI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI *Vibrio Cholerae***

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

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

**Oleh :
HAFID LANA KURNIAWAN
NIM. 105080300111004**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI
UJI AKTIFITAS EKSTRAK KERANG DARAH (*Anadara granosa*) SEBAGAI
SENYAWA ANTIBAKTERI DARI *Vibrio Cholerae*

Oleh :

HAFID LANA KURNIAWAN
NIM. 105080300111004

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 07 Maret 2016
dan telah dinyatakan memenuhi syarat

SK Dekan no. : _____
Tanggal : _____

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Dwi Setijawati, Mkes
NIP. 19611022 198802 2 001
Tanggal : 23 Maret 2016

Dosen Pembimbing I

Ir. Darius M. Biotech
NIP. 19500531 198103 1 003
Tanggal : 23 Maret 2016

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Yahya, MP
NIP. 19630706 199803 1 005
Tanggal : 23 Maret 2016

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning Wilafeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal : 23 MAR 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, 07 Maret 2016

Hafid Lana Kurniawan

NIM. 105080300111004



UCAPAN TERIMAKASIH

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan berkah, nikmat dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi ini. Shalawat serta Salam tidak lupa penulis curahkan kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW beserta iringan doa kepada keluarga, sahabat dan seluruh pengikut setianya hingga akhir zaman.

Penulis menyadari dalam penyusunan laporan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan rendah hati dan penuh keikhlasan, tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua Yudi Santoso dan Sri Wahyu Hidayati yang tidak henti-hentinya telah memberikan dorongan semangat dan doa. Kemudian juga kakak saya Yudha dan istrinya mbak Pita yang memberikan dorongan semangat dan doanya sampai saya menjadi sarjana.
2. Ir. Darius M. Biotech selaku dosen pembimbing 1 yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
4. Dr. Ir. Titik Dwi S. MP dan Dr. Ir. Dwi Setijawati. Mkes selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
5. Dian Camalia, yang selalu mendampingi, mengingatkan dan memberikan semangat sampai terselesaikannya laporan Skripsi ini.
6. Bapak Sugito dan Ibu Sulasmi yang memberikan dorongan semangat dan doanya sampai terselesaikan Skripsi ini
7. Sahabat-sahabat tercinta THP angkatan 2010, yang selalu setia memberi motivasi, semangat dan doa. Rasa berhutang budi penulis begitu besar dan tidak akan terlupakan, semoga kelak kita lebih bisa menjadi orang berguna bagi keluarga, masyarakat dan negara.

RINGKASAN

Hafid Lana Kurniawan (NIM 105080300111004). Skripsi tentang Uji Aktifitas Ekstrak Kerang Darah (*Anadara Granosa*) Sebagai Senyawa Antibakteri Dari *Vibrio Cholerae* (di bawah bimbingan Ir. Darius, M. Biotech dan Dr. Ir. Yahya, MP)

Vibrio cholerae adalah bakteri penyebab penyakit pada manusia. Bakteri ini biasanya mengkontaminasi makanan yang berasal dari laut yang masih mentah atau proses pemasakan yang tidak sempurna. Selain itu juga dapat melalui kontaminasi saat proses penanganan dan pengolahan. Salah satu sumber bahan alami yang memiliki aktivitas antimikroba yaitu kerang darah. Beberapa daerah berpantai di Malaysia dan Thailand telah membudidayakan kerang darah, namun belum terlalu populer. Pada daerah tersebut, kerang darah telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk penyakit kolera, hepatitis A dan disenteri. Pemanfaatan kerang darah sebagai obat tradisional tersebut memberikan dugaan bahwa kerang darah memiliki suatu senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Senyawa antibakteri adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak kerang darah (*Anadara granosa*) yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera* dan mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam kerang darah (*Anadara granosa*). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Forensik dan Narkoba Polda Jatim dan pada bulan Januari sampai Juni 2015.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dimana tujuannya untuk mengetahui pengaruh penggunaan konsentrasi berbeda pada ekstrak yang diuji terhadap kemampuan daya hambat antibakteri. Penelitian pendahuluan meliputi ekstraksi, isolasi dengan kromatografi kolom dan KLT, serta uji aktivitas antibakteri untuk mencari fraksi teraktif. Penelitian utama meliputi : uji daya hambat fraksi etil asetat *Anadara granosa* terbaik (konsentrasi 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, dan 4 mg/ml) dan identifikasi senyawa fraksi teraktif dengan spektrofotometri UV-Vis dan GCMS.

Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi dari fraksi etil asetat *Anadara granosa* diperoleh bahwa fraksi yang terbaik untuk digunakan sebagai uji daya hambat adalah fraksi B. Kemudian konsentrasi yang terbaik untuk digunakan sebagai uji daya hambat pada *A. granosa* adalah 4000 ppm yaitu sebesar 3,475 mm. Hasil identifikasi senyawa spektrofotometri UV-Vis dan GC-MS bahwa terdapat serapan λ^{\max} 414,00 nm dan senyawa dugaan pada pada RT 28,6024 dengan presentase area 0,95. yang diduga merupakan senyawa turunan steroid.

Setelah saya melakukan penelitian ini, saran yang bisa saya berikan adalah untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak *Anadara granosa* terhadap *Vibrio cholerae* dengan menggunakan pelarut berbeda selain etil asetat dan dengan bakteri berbeda. Kemudian disarankan ekstrak dari *Anadara granosa* digunakan sebagai senyawa antioksidan.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Alhamdulillahirabbilalamin. Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala berkah, rahmat serta karunia-Nya yang tiada terkira sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi dengan judul "Uji Aktifitas Ekstrak Kerang Darah (*Anadara granosa*) Sebagai Senyawa Antibakteri Dari *Vibrio cholerae*". Dalam penyusunannya, penulis banyak mengambil literatur-literatur yang bersumber dari *text book*, artikel, jurnal, maupun prosiding seminar untuk dijadikan tinjauan pustaka yang dapat mendukung pembuatan laporan Skripsi tersebut. Selain itu, penulis juga memperoleh banyak bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga segala informasi, ilmu dan materi terkait bahasan laporan Skripsi dapat dengan mudah diperoleh.

Penulis menyadari dalam laporan Skripsi ini tentunya masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan, baik dari materi maupun teknik penyajian mengingat kurangnya pengetahuan dan pengalaman penulis. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya, terutama para Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Malang, Maret 2016

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMAKASIH	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan Penelitian	4
1.6 Waktu dan Tempat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kerang darah (<i>Anadara granosa</i>).....	5
2.2 Senyawa Bioaktif.....	6
2.3 Pelarut.....	8
2.3.1 Etil Asetat	8
2.3.2 DMSO.....	9
2.4 Ekstraksi.....	10
2.5 Antibakteri	11
2.5.1 Uji Aktivitas Antibakteri	11
2.5.2 Mekanisme Senyawa Antibakteri.....	12
2.5.3 Bakteri Uji.....	12
2.6 Kromatografi Kolom.....	13
2.7 Identifikasi Senyawa Bioaktif	14
2.7.1 Spektrofotometer UV – Vis	14
2.7.2 GC – MS (<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i>)	14
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian.....	15
3.1.1 Bahan Penelitian	15
3.1.2 Alat Penelitian.....	15
3.2 Metode Penelitian.....	16
3.2.1 Penelitian Pendahuluan dan Penelitian Utama	17
3.2.1.1 Prosedur Penelitian Pendahuluan dan Penelitian Utama.....	19
3.2.2 Parameter Uji Penelitian	24
3.3.3 Analisa Data	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian.....	26
4.1.1 Ekstraksi <i>Anadara granosa</i>	26
4.1.2 Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat <i>Anadara granosa</i>	27
4.1.3 Isolasi Ekstrak Etil Asetat <i>A.granosa</i> dengan Kromatografi Kolom ..	30
4.1.4 Uji Antibakteri Fraksi-Fraksi <i>A.granosa</i> terhadap <i>V.cholerae</i>	32

4.2 Analisa Senyawa Antibakteri Anadara granosa 35

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan 43

5.2 Saran 43

DAFTAR PUSTAKA..... 44

LAMPIRAN..... 48



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Gizi Kerang Darah 6
Tabel 2. Rancangan Acak Lengkap Faktorial..... 17
Tabel 3. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Anadara granosa..... 28
Tabel 4. Fraksi-Fraksi Ekstrak Etil Asetat A.granosa Hasil Kromatografi Kolom... 32
Tabel 5. Data Hasil Pengamatan Diameter Daya Hambat..... 34
Tabel 6. Klasifikasi Respon Daya Hambat 35
Tabel 7. Senyawa Ekstrak Andara granosa pada Uji GC-MS..... 39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Anadara granosa</i>	5
Gambar 2. Sintesis Etil Asetat	14
Gambar 3. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan dan Penelitian Utama	18
Gambar 4. Tahapan uji aktivitas antibakteri pada berbagai konsentrasi ekstrak ..	29
Gambar 5. Ekstraksi <i>Anadara granosa</i>	25
Gambar 6. Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat <i>A.granosa</i>	28
Gambar 7. Kromatografi Kolom Ekstrak Etil Asetat <i>A.granosa</i>	31
Gambar 8. Uji Daya Hambat Ekstrak <i>Anadara granosa</i>	33
Gambar 9. Rerata Hasil Zona Hambat dan Hasil BNJ 5% <i>A.granosa</i>	35
Gambar 10. Spektrum UV-Vis <i>Anadara granosa</i>	36
Gambar 11. Spektrum GC-MS <i>Anadara granosa</i>	38
Gambar 12. Struktur Octadecanoic acid	40
Gambar 13. Struktur Octadecanal stearaldehyde	40
Gambar 14. Struktur Hexadecanoic	41
Gambar 15. Struktur Kolesterol.....	42



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etil Asetat Anadara granosa	48
Lampiran 2. Prosedur Pengujian Antibakteri Ekstrak Anadara granosa	49
Lampiran 3. Prosedur Pembuatan DMSO 10 % dan Konsentrasi	50
Lampiran 4. Analisis Keragaman (ANOVA).....	52
Lampiran 5. Hasil Analisa Spektrofotometer UV-Vis	55
Lampiran 6. Hasil Analisa GC-MS.....	56
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	57



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etil Asetat Anadara granosa	48
Lampiran 2. Prosedur Pengujian Antibakteri Ekstrak Anadara granosa	49
Lampiran 3. Prosedur Pembuatan DMSO 10 % dan Konsentrasi	50
Lampiran 4. Analisis Keragaman (ANOVA).....	52
Lampiran 5. Hasil Analisa Spektrofotometer UV-Vis	55
Lampiran 6. Hasil Analisa GC-MS.....	56
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	57



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Vibrio cholerae adalah bakteri penyebab penyakit pada manusia. Bakteri ini biasanya mengkontaminasi makanan yang berasal dari laut yang masih mentah atau proses pemasakan yang tidak sempurna. Selain itu juga dapat melalui kontaminasi saat proses penanganan dan pengolahan (Mawengkang, 2010). Penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri ini adalah penyakit kolera yang merupakan infeksi saluran pencernaan, dimana gejala klinis diawali dengan diare yang encer. Pada awalnya penyakit ini berasal dari Afrika dan Indian Suncontinent kemudian menyebar ke beberapa benua Eropa, Asia dan akhirnya sampai ke Indonesia (Ananta *et al.*, 2013).

Kerang Anadara terdapat di pantai laut pada substrat lumpur berpasir dengan kedalaman 10 m sampai 30 m. Kerang Anadara termasuk kedalam subkelas Lamellibranchia, dimana filament insang memanjang dan melipat, seperti huruf W, antar filamen dihubungkan oleh cilia (filiaranchia) atau jaringan (eulamellibranchia). Anadara juga merupakan ordo Toxodonta, dimana gigi pada hinge banyak dan sama, kedua otot aduktor berukuran kurang lebih sama, pertautan antar filament insang tidak ada (Oemarjati, 1990).

Kerang darah (*A. granosa*) merupakan salah satu sumberdaya bernilai ekonomis dan merupakan sumber protein. Nurjanah *et al* (2005) menyatakan kandungan proksimat kerang darah kering terdiri atas 8,74% abu, 76% protein dan 9,75% lemak. Salah satu pusat penghasil kerang adalah Teluk Lada Labuan, Banten. Penangkapan kerang darah di daerah ini hampir tidak mengenal musim karena stoknya tersedia sepanjang tahun.

Kerang darah termasuk ke dalam kelas Pelecypoda/Bivalvia yang kebanyakan hidup di laut terutama di daerah litoral, dasar perairan yang berlumpur atau berpasir. Pada dasarnya tubuh Pelecypoda ini tertutup dua keping cangkang yang berhubungan di bagian dorsal dengan adanya hinge ligamen, yaitu semacam pita elastik yang terdiri dari bahan organik seperti zat tanduk. Kedua keping cangkang pada bagian dalam juga ditautkan oleh satu atau dua buah otot aduktor yang bekerja secara antagonis dengan hinge ligamen (Suwignyo 1998).

Kerang darah merupakan salah satu jenis kerang yang bernilai ekonomis tinggi dan harganya terjangkau masyarakat. Kerang darah bermanfaat sebagai antioksidan dalam sistem pertahanan tubuh terhadap reaksi oksidasi radikal bebas. Kerang darah diduga memiliki komponen mineral tertentu yang berguna sebagai antioksidan, diantaranya adalah tembaga (Cu), zat besi (Fe), Seng (Zn) dan Selenium (Se). Cu dan Zn merupakan mineral penting pada berbagai sistem enzim dan hormon. Fe berperan penting untuk tubuh manusia. Apabila kekurangan Fe, maka akan menyebabkan anemia, sedangkan selenium merupakan mineral yang cukup esensial, sebagai enzim yang paling penting antioksidan. Kerang darah juga mengandung Ca yang berguna sebagai mineral untuk pembentukan tulang dan gigi terutama pada masa pertumbuhan dan ibu hamil (Nurjanah *et al* 2005).

Ninda (2008) dalam artikelnya menyatakan bahwa kerang mampu membantu melawan bakteri dan beberapa jenis penyakit. Tan dan Ng (2008) juga menyebutkan bahwa beberapa daerah berpantai di Malaysia dan Thailand telah membudidayakan kerang darah, namun belum terlalu populer. Pada daerah tersebut, kerang darah telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk penyakit kolera, hepatitis A dan disentri. Pemanfaatan kerang darah sebagai obat tradisional tersebut memberikan dugaan bahwa kerang darah memiliki suatu

senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Senyawa antibakteri adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri (Irianto 2006). Senyawa-senyawa aktif dari kerang darah yang diperoleh dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, pangan, industri, dan lain-lain. Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *Andara granosa* yang tepat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

- a) Berapa konsentrasi ekstrak kerang darah (*Andara granosa*) yang dapat menghasilkan antibakteri terbaik terhadap *Vibrio cholerae*?
- b) Senyawa apa saja yang terkandung pada ekstrak kerang darah (*Andara granosa*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian untuk :

- a) Mendapatkan konsentrasi ekstrak kerang darah (*Andara granosa*) yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*.
- b) Mendapatkan senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam kerang darah (*Anadara granosa*)

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah :

- a) Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kerang darah (*Andara granosa*) dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae*.
- b) Senyawa bioaktif dalam kerang darah (*Andara granosa*) berpotensi menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae*.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat dan lembaga pemerintahan mengenai manfaat dan kandungan dari kerang darah (*Anadara granosa*).
2. Masyarakat dapat memanfaatkan kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai antibakteri alami pada makanan.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Forensik dan Narkoba Polda Jatim dan pada bulan Januari sampai Juni 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan hewan moluska (binatang lunak) yang memiliki dua buah cangkang (bivalvia). Klasifikasi dan identifikasi kerang darah menurut Broom (1985) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Sub Kingdom : Metazoa
Filum : Mollusca
Kelas : Bivalvia
Sub Kelas : Pteriomorphia
Ordo : Arcoida
Super Famili : Arcoidea/ Aracea
Famili : Archidae
Genus : *Anadara*
Species : *Anadara granosa*



Gambar 1. Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah disebut *Anadara granosa* karena kelompok kerang ini memiliki pigmen darah merah (haemoglobin) yang disebut *bloody cockles*. Kerang ini memiliki cairan haemoglobin yang berfungsi mengikat oksigen dalam daging kerang, sehingga kerang ini dapat hidup pada kondisi kadar oksigen yang relative rendah. Kerang darah masih bisa hidup setelah dipanen walaupun tanpa air (Nurjanah *et al* 2005).

Broom (1985); Pathansali (1966) diacu dalam Erianto (2005) menjelaskan bahwa kerang darah hidup di daerah pasang surut, umumnya ditemukan pada lahan pantai yang berada di antara daerah rataaan pasang dan rataaan surut

berlumpur lunak berbatasan dengan hutan bakau dengan habitat ideal berupa substrat lumpur halus berukuran kurang dari 0,124 mm sebanyak 90% pada hamparan pasang (*tidal flat*) yang terlindung dari ombak, di luar muara sungai dengan salinitas 18-30%.

Tabel 1. Kandungan Gizi Kerang Darah

Kandungan Gizi	Jumlah (%)
Protein	11,84
Lemak	0,60
Air	81,81
Kadar Abu	2

Sumber: Daluningrum (2009)

2.2 Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif merupakan suatu senyawa aktif yang termasuk metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan suatu komponen hasil metabolisme yang unik dan terbatas, yang terkadang hanya dijumpai pada kelompok tertentu, biasanya tidak dibutuhkan oleh sel (organisme) untuk hidup, tetapi berperan dalam interaksi sel (organisme) dengan lingkungan, menjamin ketahanan hidup organisme tersebut pada ekosistem hidupnya (Verpoorte dan Alfermann 2000).

Alkaloid merupakan golongan terbesar dari senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan dan hingga saat ini sebanyak 5500 jenis alkaloid telah diketahui. Pada umumnya alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid seringkali bersifat racun bagi manusia, tetapi beberapa alkaloid memiliki

aktivitas farmakologis dan digunakan secara luas dalam bidang kesehatan (Harborne 1987). Senyawa ini pada tumbuhan berfungsi untuk melindungi diri dari prodator karena bersifat racun pada satwa misalnya serangga, sebagai zat perangsang dan pengatur tumbuh dan membantu aktivitas metabolisme dan reproduksi tumbuhan (Verpoorte dan Alfermann 2000).

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Triterpenoid dapat digolongkan menjadi empat golongan, yaitu triterpena, steroid, saponin dan glikosida jantung. Triterpena yang dijumpai pada tumbuhan berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Harborne 1987). Steroid terdapat pada hampir semua tipe sistem kehidupan. Steroid yang dijumpai pada binatang bertindak sebagai hormon, selain itu steroid juga digunakan secara luas sebagai obat (Verpoorte dan Alfermann 2000). Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang terdeteksi pada lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa yang bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Golongan triterpena terakhir adalah glikosida jantung atau kardenolida. Beberapa glikosida jantung adalah racun, tetapi terdapat juga yang berkhasiat farmakologi, terutama terhadap jantung, seperti tercermin pada namanya (Harborne 1987).

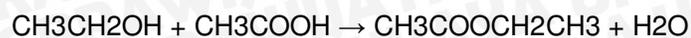
Flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam air dan dapat diekstrak dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan. Flavonoid yang banyak terdapat di alam adalah jenis flavon dan flavonol, sedangkan isoflavon dan biflavonol hanya terdapat pada beberapa suku tumbuhan saja (Harborne 1987).

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 (Bryan 1982; Wilson dan Gisvold 1982 diacu dalam Sabir 2005), sementara Mirzoeva *et al.* (1997) diacu dalam Sabir (2005) dalam penelitiannya berpendapat bahwa flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri, selain itu juga menghambat motilitas bakteri. Mekanisme yang berbeda dikemukakan oleh Di Carlo *et al.* (1999) dan Estrela *et al.* (1995) diacu dalam Sabir (2005) yang menyatakan bahwa gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri.

2.3 Pelarut

2.3.1 Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut polar menengah (semi polar) yang volatil, tidak beracun dan tidak higroskopis. Etil asetat dapat melarutkan air hingga 3% dan larut dalam air hingga kelarutan 8% pada suhu kamar. Kelarutannya akan meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Tetapi senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung asam atau basa. Etil asetat adalah senyawa organik yang merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tidak berwarna, memiliki aroma yang khas dan sering disingkat dengan EtOAc, dimana Et mewakili gugus etil dan OAc mewakili asetat. Etil asetat diproduksi dalam skala besar dan digunakan sebagai pelarut (Fessenden dan Fessenden 1997). Sintesis etil asetat ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2 Sintesis etil asetat.

Sumber: Fessenden dan Fessenden (1997)

Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mampu mengekstrak fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan aglisida dari suatu bahan (Harborne 1987). Pambayun *et al.* (2007) menggunakan etil asetat sebagai salah satu pelarut dalam mengekstraksi gambir untuk mengetahui sifat antibakteri. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak gambir dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri paling baik apabila dibandingkan dengan ekstrak kloroform dan etanol karena ekstrak etil asetat diduga mengandung senyawa fenol yang paling tinggi, dimana senyawa fenol merupakan komponen terpenting terkait dengan sifat antibakteri.

2.3.2 DMSO

Dimethyl – sulfoxide merupakan salah satu pelarut dalam uji antibakteri maupun uji antifungal suatu ekstrak ataupun obat baru (Hastari, 2012). DMSO mampu melarutkan senyawa polar maupun non polar. Hal ini sama dengan pernyataan Handayani *et al.*, (2007), yang menyebutkan bahwa DMSO dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara untuk mendapatkan zat – zat berkhasiat atau zat – zat aktif dengan cara menariknya dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai

terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Ditjen POM, 1986).

Metode ekstraksi yang dilakukan tergantung pada beberapa faktor, antara lain tujuan ekstraksi, skala ekstraksi, sifat-sifat komponen yang akan diekstraksi dan sifat-sifat pelarut yang akan digunakan. Prinsip metode ekstraksi menggunakan pelarut organik adalah bahan yang akan diekstrak kontak langsung dengan pelarut pada waktu tertentu, kemudian diikuti dengan melakukan pemisahan dari bahan yang telah diekstrak (Houghton & Raman 1998).

Selain caranya yang sederhana dan tidak membutuhkan peralatan khusus, maserasi juga memiliki kekurangan. Menurut Depkes RI (2000), Kekurangannya adalah pengerjaannya yang lama karena adanya penambahan pelarut untuk penyarian ekstrak pertama dan seterusnya. Kemudian enarikan terhadap kandungan senyawa suatu bahan tidak sempurna karena prinsip kerjanya adalah pencapaian keseimbangan konsentrasi.

Tahap – tahap pencapaian keseimbangan konsentrasi adalah pelarut akan melarutkan kandungan simpliasi dari suatu bahan. Pada waktu yang sama akan terjadi proses difusi antara bahan dengan pelarut sampai keduanya mencapai konsentrasi yang seimbang. Keseimbangan konsentrasi ini menandakan proses difusi sudah berakhir dan senyawa dalam bahan sudah masuk kedalam pelarut. Agar keseimbangan konsentrasi lebih cepat tercapai maka sesekali perlu dilakukan pengocokan atau pengadukan (Istiqomah, 2013).

Sifat penting yang harus diperhatikan dalam ekstraksi adalah kepolaran senyawa dilihat dari gugus polarnya. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar lebih mudah larut dalam pelarut non polar. Derajat polaritas tergantung pada tetapan dielektrik, makin besar tetapan dielektrik semakin polar pelarut tersebut (Sudarmadji *et al.* 2007). Ekstraksi

bertingkat dilakukan secara berturut-turut dimulai dengan pelarut nonpolar dilanjutkan dengan pelarut yang menengah kepolarannya (semi polar), kemudian dengan pelarut polar, sehingga akan diperoleh ekstrak kasar (*crude extract*) yang berturut-turut senyawa nonpolar, semi polar dan polar.

2.5 Antibakteri

2.5.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Kertas cakram yang sudah direndam dengan zat antimikroba diletakkan di atas lempengan media agar yang sebelumnya sudah disemai dengan mikroorganisme uji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994). Menurut Jawetz, *et al.* (1995), semakin besar diameter wilayah jernih maka semakin baik penghambatannya. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi metode Kirby – Bauer (1996) diantaranya adalah konsentrasi mikroba uji, konsentrasi antibiotik yang terdapat dalam cakram, jenis antibiotik, serta pH medium.

2.5.2 Mekanisme Senyawa Antibakteri

Tahap penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri yaitu yang pertama merusak dinding sel. Tahap kedua yaitu perubahan permeabilitas membran sitoplasma. Tahap ketiga yaitu perubahan molekul protein dan asam nukleat. Tahap keempat yaitu penghambatan kerja enzim dan tahap kelima yaitu penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Kusmiyati, 2006).

Menurut (Lay dan Hastowo, 1992), ada beberapa tahap daya kerja bahan antimikrobal diantaranya adalah penghambatan pertumbuhan analog, penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan fungsi membran sel,

penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat dan yang terakhir bahan antiviral.

2.5.3 Bakteri Uji

Vibrio cholerae adalah salah satu bakteri yang masuk dalam family Vibrionaceae selain dari *Aeromonas* dan *Plesiomonas*, dan merupakan bagian dari genus *Vibrio* (Amelia, 2005). Bakteri ini termasuk bakteri patogen yang bisa didapat dari sumber makanan laut yang terkontaminasi (Ananta *et al.*, 2013). Jenis toksin yang dihasilkan oleh bakteri ini adalah eksotoksin yang berarti toksin yang dihasilkan dapat berdifusi dan diekskresikan ke medium sekitarnya atau kedalam sistem peredaran dan jaringan inang. Ciri – ciri *Vibrio cholerae* yaitu merupakan bakteri gram negatif, batang lurus dan lengkung, terdapat tunggal dan dalam rantai berpilin, tidak berkapsul, tidak membentuk spora bergerak dengan flagela tunggal polar (Hadioetomo *et al.*, 1988).

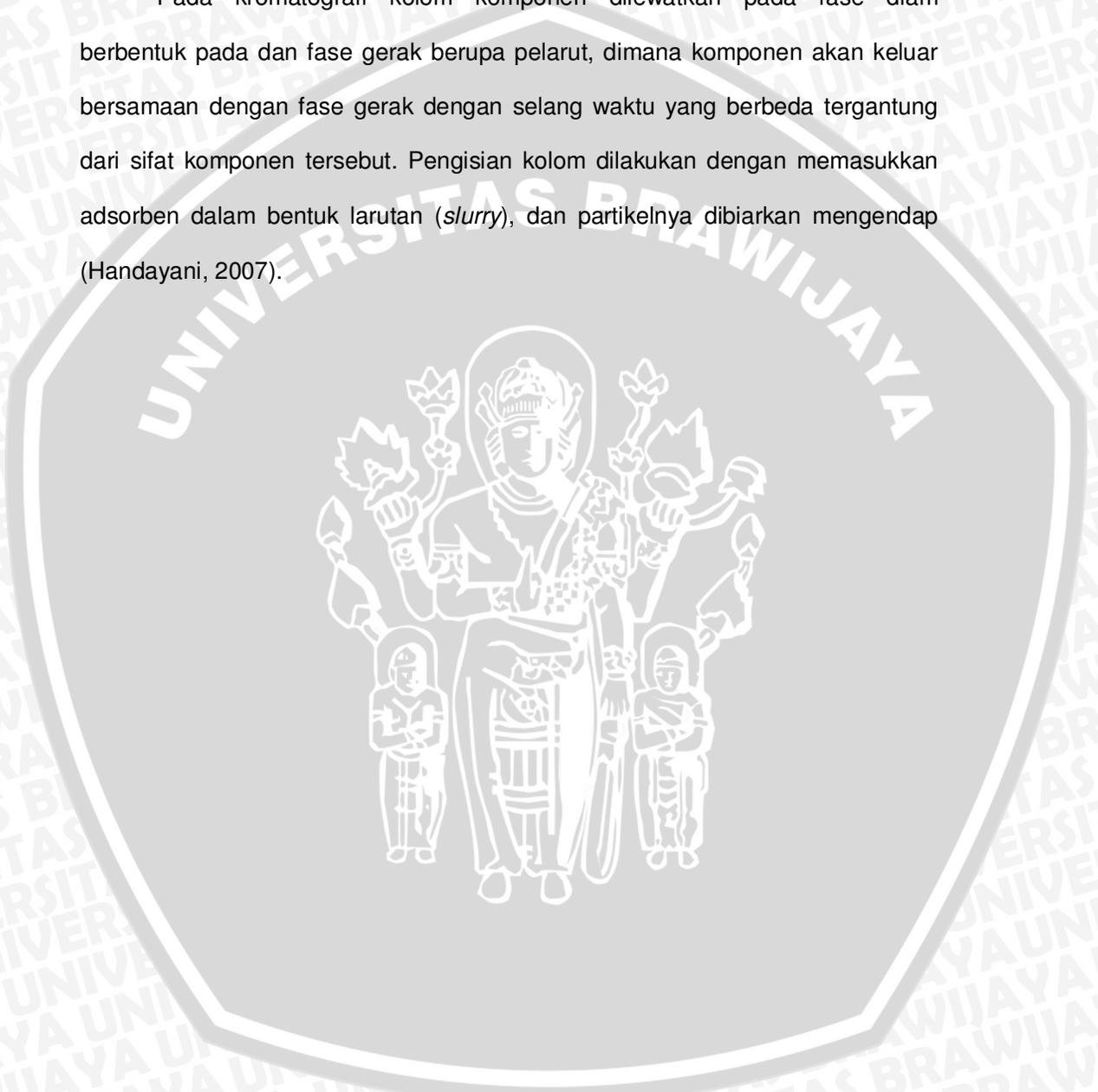
Selain itu, ciri – ciri lainnya dari *Vibrio cholerae* adalah bersifat anaerob fakultatif artinya bakteri ini bisa tumbuh dengan atau tanpa persediaan oksigen, meskipun pertumbuhannya lebih cepat bila ada oksigen. Secara fisiologi metabolisme mirip dengan enterobakteri, dimana pada kondisi anaerob bakteri ini memperoleh energi pertumbuhan dari peragian dan mengekskresi beberapa asam organik (Baskoro, 1994; Lay dan Hastowo, 1992).

2.6 Kromatografi Kolom

Teknik kromatografi pertama kali ditemukan oleh Twestt pada tahun 1903, bermanfaat untuk mengurai suatu campuran komponen yang terdistribusi diantara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Prinsip kerjanya adalah akan terjadi transfer massa antara fase gerak dan fase diam dengan jalan molekul – molekul akan terserap di permukaan partikel – partikel atau terserap di dalam pori – pori partikel atau terbagi kedalam sejumlah cairan yang terikat pada permukaan atau di dalam pori. Masing – masing komponen akan bergerak

sepanjang kolom dengan laju yang tergantung pada karakteristik masing – masing penyerapan jika ada perbedaan penahanan secara selektif (Khopkar, 2008).

Pada kromatografi kolom komponen dilewatkan pada fase diam berbentuk pada dan fase gerak berupa pelarut, dimana komponen akan keluar bersamaan dengan fase gerak dengan selang waktu yang berbeda tergantung dari sifat komponen tersebut. Pengisian kolom dilakukan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (*slurry*), dan partikelnya dibiarkan mengendap (Handayani, 2007).



2.7 Identifikasi Senyawa Bioaktif

2.7.1 Spektrofotometer UV – Vis

Prinsip kerja Spektrofotometri UV – Vis berdasarkan penyerapan cahaya atau energi radiasi oleh suatu larutan. Jumlah cahaya atau energi radiasi yang diserap memungkinkan pengukuran jumlah zat penyerap dalam larutan secara kuantitatif. Metode ini telah banyak diterapkan untuk penetapan senyawa – senyawa organik yang umumnya dipergunakan untuk penentuan senyawa dalam jumlah yang sangat kecil (Triyati, 1985).

Menurut Hendayana *et al.*, (1994), penyerapan sinar tampak atau ultraviolet oleh suatu molekul menyebabkan terjadinya eksitasi molekul tersebut dari tingkat energi dasar (*ground stated*) ke tingkat energi yang lebih tinggi (*exited stated*). Penyerapan tersebut menghasilkan eksitasi elektron bonding yang mengakibatkan panjang gelombang absorpsi maksimum dapat dikolerasikan dengan jenis ikatan yang ada di dalam molekul yang sedang diselidiki.

2.7.2 Uji GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

Uji GC-MS dilakukan untuk mengetahui senyawa daya antibakteri dari konsentrasi ekstrak yang terbaik terhadap bakteri *Vibrio cholerae*. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injector 290°C. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC. Prosedur kerja kromatografi didasarkan pada pemisahan campuran dua atau lebih senyawa yang berbeda yang terdistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian menggunakan kerang darah (*Anadara granosa*) yang di dapat dari supermarket di Malang. Bahan-bahan yang digunakan dalam ekstraksi dan isolasi MERCK, aquadest, bubuk dan plat silika gel 60 GF₂₅₄ MERCK, kapas, kertas saring Whatman No 1, alumunium foil, dan plastik wrap. Bahan yang digunakan untuk kultur bakteri adalah biakan murni *Vibrio cholerae*, media *tripton soya agar* dan aquades. Untuk menguji daya hambat bakteri bahan yang digunakan adalah fraksi etil asetat kerang darah yang diperoleh dari kromtografi kolom dengan berbagai konsentrasi, biakan murni *Vibrio cholerae*, media *muller hinton agar*, media *tripton soya agar*, kertas cakram, *cotton swap* steril, DMSO 10 %, antibiotic kloramfenikol dan alkohol 70%.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi dan isolasi *Anadara granosa* adalah erlemneyer 500 ml, *rotary vacuum evaporator*, corong, timbangan digital, gelas ukur 100 ml, tabung kolom kromatografi, dan botol vial. Untuk kultur bakteri *Vibrio cholerae*, alat-alat yang diperlukan adalah cawan petri, erlenmeyer 500 ml, gelas ukur 100 ml, timbangan digital, ose, bunsen, *autoclave* dan incubator merk MEMMERT. Untuk pengujian daya hambat bakteri, alat-alat yang diperlukan adalah mikropipet 0,1 mL, bunsen, pinset, vortex dan jangka sorong atau penggaris, dan tabung reaksi. Peralatan yang digunakan untuk purifikasi dan identifikasi senyawa antibakteri dari kerang darah (*Anadara granosa*) adalah erlenmeyer 100 ml, tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis serta GC-MS.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam skripsi ini adalah metode eksperimen dimana tujuannya untuk mengetahui pengaruh penggunaan konsentrasi berbeda

pada ekstrak yang diuji terhadap kemampuan daya hambat antibakteri. Dugaan sementara dibuktikan dengan melakukan uji daya hambat dari ekstrak *Anadara granosa* pada konsentrasi berbeda terhadap *Vibrio cholerae*. Indikator yang ingin dicapai adalah adanya perbedaan diameter zona bening (zona penghambatan bakteri) pada setiap konsentrasi yang diberikan dimana semakin lebar zona bening, maka semakin efektif senyawa bioaktif yang dihasilkan dari ekstraksi.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah etil asetat p.a sebagai pelarut bioaktif pada *Anadara granosa*, penggunaan kloramfenikol sebagai antibiotik dan penggunaan konsentrasi berbeda hasil ekstraksi. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm.

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktorial dengan 3 kali ulangan. Faktor pertama adalah penggunaan fraksi etil asetat *Anadara granosa* dan antibiotik *kloramfenikol*. Faktor kedua adalah konsentrasi yang dibuat berbeda (0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 4 mg/ml). Pengamatan dilakukan terhadap zona hambat bakteri yang terbentuk dari setiap perlakuan. Rumus model linier untuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktorial yang digunakan adalah:

Tabel 2. Rancangan Acak Lengkap

Perlakuan		Ulangan			
Zat Aktif	Konsentrasi (ppm)	1	2	3	4
Ekstrak <i>Anadara granosa</i>	1000	Aa1	Aa2	Aa3	Aa4
	1500				
	2000	Ab1	Ab2	Ab3	Ab4
	4000	Ac1	Ac2	Ac3	Ac4
Antibiotik kloramfenikol	50	Ba1	Ba2	Ba3	Ba4
	100				
	150	Bb1	Bb2	Bb3	Bb4
	200	Bc1	Bc2	Bc3	Bc4

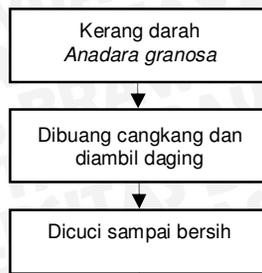
$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan:

- Y_{ijk} = Hasil pengamatan faktor A taraf ke-i, faktor B taraf ke-j, pada ulangan ke-k
- μ = Rataan umum
- α_i = Pengaruh faktor A pada taraf ke-i
- β_j = Pengaruh faktor B pada taraf ke-j
- (αβ)_{ij} = Interaksi antara A dan B pada faktor A taraf ke-i, faktor B taraf ke-j
- ε_{ijk} = Galat percobaan untuk faktor A taraf ke-i, faktor B level ke-j pada ulangan ke-k

3.2.1 Penelitian pendahuluan dan Penelitian utama

Kegiatan dalam penelitian ini meliputi ekstraksi kerang darah (*Anadara granosa*), uji fitokimia ekstrak *Anadara granosa*, isolasi senyawa dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis, dan uji daya hambat fraksi-fraksi yang diperoleh dari proses isolasi terhadap bakteri *Vibrio cholerae*. Diagram alir proses penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3**.





Gambar 3. Penelitian pendahuluan dan Penelitian utama

3.2.1.1 Prosedur Penelitian Pendahuluan dan Penelitian utama

- **Ekstraksi *Anadara granosa***
 Sampel segar kerang darah (*Anadara granosa*) dibuang cangkang kerang darah dan diambil daging kerang darah. Selanjutnya kerang darah dibersihkan,



dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan blender. Ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yaitu merendam kerang darah dengan pelarut etil asetat (1:3 b/v). Maserasi dilakukan selama 3 kali 24 jam, dengan mengganti pelarut baru setiap harinya. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* vakum pada suhu 40° C dan 100 rpm. Ditunggu sampai pelarut dan ekstrak benar-benar terpisah sehingga diambil ekstrak murni kerang darah. Ekstrak etil asetat *Anadara granosa* disimpan pada suhu 4° C untuk digunakan pada analisis selanjutnya.

- **Uji fitokimia ekstrak *Anadara granosa***

Identifikasi komponen aktif yang berperan sebagai antibakteri dalam kerang darah (*A. granosa*) dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid dan steroid (Darusman et al. 1994) dengan metode sebagai berikut (Harborne 1987):

a) Alkaloid (Harborne 1987)

Sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2N kemudian diuji dengan tiga pereaksi Alkaloid, yaitu pereaksi Dragendorff, Meyer dan Wagner. Hasil uji dinyatakan positif bila pereaksi Meyer terbentuk endapan putih kekuningan, endapan cokelat dengan pereaksi Wagner dan endapan merah sampai jingga dengan pereaksi Dragendorff.

b) Steroid (Harborne 1987)

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi yang kering. Ke dalamnya ditambahkan 10 tetes anhidrida asetat dan 3 tetes H₂SO₄ pekat. Terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau menunjukkan reaksi positif.

c) Flavonoid (Harborne 1987)

Sejumlah sampel ditambah serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 ml amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume sama dan 4 ml alkohol kemudian campuran dikocok. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

- **Pemisahan dengan Kromatografi Kolom**

Pertama dilakukan pengisian kolom dengan cara bawah kolom diisi dengan sedikit kapas. Kemudian diisi dengan bubuk *silica gel* sebagai fase diam. Untuk membuat bubuk *silica gel* yaitu *silica gel* sebanyak 40 gram dilarutkan dengan fase gerak. Kemudian dimasukkan bubuk *silica gel* dan ditunggu selama 24 jam dan sesekali kolom diketuk sampai bubuk *silica gel* benar – benar mengendap. Panjang timbunan bubuk *silica gel* dalam kolom \pm 15 cm. Kemudian ditambahkan *sea sand* sebanyak 3 gram. Setelah persiapan dengan pengisian kolom, dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom. Mula – mula kromatografi kolom dialirkan ekstrak kasar *Anadara granosa*, kemudian kran kromatografi dibuka. Ekstrak akan meresap ke *silica gel* dalam kolom sampai batas atas *silica gel*. Selanjutnya, dimasukkan pereaksi terus menerus sambil kran kolom dibuka. Pereaksi yang digunakan dalam pemisahan ini adalah eluen campuran pelarut polar berupa metanol dan semi polar berupa etil asetat teknis dengan perbandingan 5:5, 6:4, 7:3, 8:2. Fraksi yang terpisah ditampung dalam tabung reaksi sampai seluruh ekstrak terpisahkan.

Untuk identifikasi awal senyawa dan pengelompokan fraksi dilakukan uji menggunakan plat kromatografi lapis tipis. Plat yang digunakan adalah plat *silica gel* 60 GF₂₅₄ MERCK dengan ukuran panjang 5 cm dan lebar 1 cm. Plat tersebut diberi jarak tepi bawah 1 cm dan tepi atas 0,5 cm sehingga didapatkan jarak tempuh 3,5 cm. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksan: aseton (7:3). Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian ditotolkan pada batas bawah menggunakan pipa kapiler. Kemudian plat diculupkan kedalam bejana

kromatografi yang berisi fase gerak. Ditutup rapat bejana dan dibiarkan fase gerak naik hingga batas atas plat *silica gel*. Plat selanjutnya disemprot dengan H₂SO₄ 15 % dalam etanol dan dipanaskan. Diamati noda yang terbentuk dan dicatat nilai *Rf*.

- **Uji Aktivitas Antibakteri *Anadar Granosa* terhadap Bakteri *Vibrio Cholerae* (Noer dan Nurhayati 2006)**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap ekstrak kerang darah (*A. granosa*). Uji ini meliputi persiapan media padat TSA, persiapan suspensi bakteri, persiapan media padat MHA, prosedur uji pendahuluan aktivitas antibakteri, prosedur uji aktivitas antibakteri dengan berbagai konsentrasi dan pengukuran zona hambat. Bakteri uji yang digunakan adalah *Vibrio cholerae*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan *paper disc*.

Persiapan media padat TSA digunakan untuk penyegaran bakteri uji, yaitu *Vibrio cholera* dilakukan pada media TSA (*Trypticase Soy Agar*). Media TSA dibuat dengan melarutkan sebanyak 8 gram media TSA bubuk dalam aquades hingga volume 200 ml, lalu dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih. TSA dipipet sebanyak 9 ml dalam tabung reaksi dan masing-masing tabung ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Media lalu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu media dimiringkan sekitar 45 derajat dan dibiarkan hingga membeku. Setelah membeku media selanjutnya disimpan dalam refrigerator.

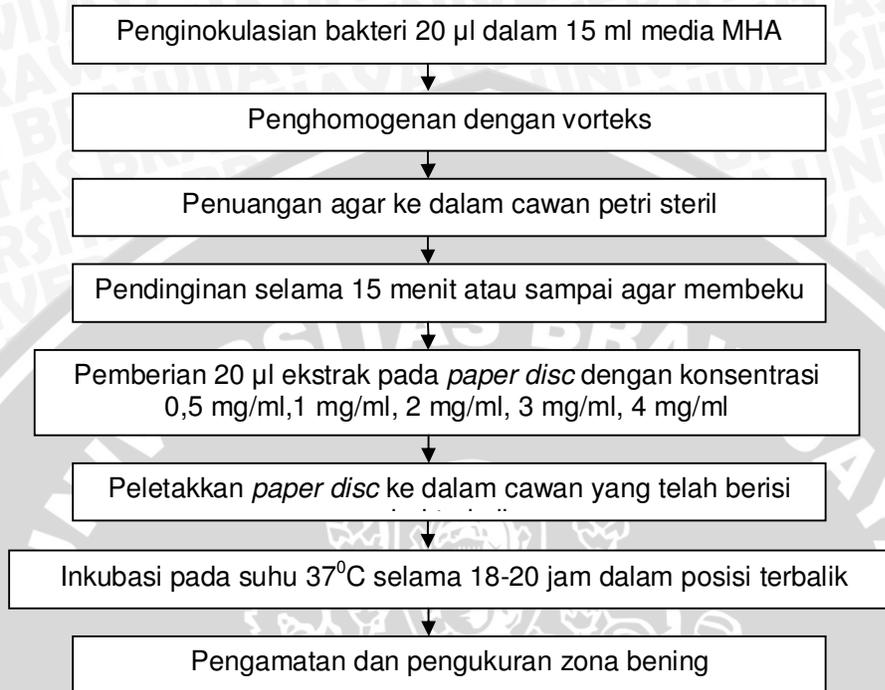
Persiapan suspensi bakteri yaitu sebanyak 1 ose bakteri uji digoreskan pada media TSA dengan pola zig zag secara aseptik, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah itu 1-2 ose bakteri uji dari media TSA

dimasukkan ke dalam media NB yang telah dingin secara aseptik. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Persiapan media padat MHA Media padat yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri adalah media *Mueller Hinton Agar* (MHA). MHA dibuat dengan melarutkan 7,6 gram media MHA bubuk dalam aquades hingga volume 200 ml, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih. Larutan dipipet 15 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan masing-masing tabung ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Sebelum digunakan, media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media didinginkan pada suhu ruang sampai agar membeku. Setelah membeku, media disimpan dalam refrigerator.

Uji aktivitas antibakteri disiapkan Cawan petri dengan media *Muller Hinton Agar* disiapkan untuk disebar dengan bakteri uji. Kapas lidi (*cotton swab*) steril dicelupkan dalam suspensi biakan uji dengan kepadatan sesuai dengan *McFarland* 10⁻⁶, kemudian kapas lidi diputar pada dinding tabung (diperas) agar cairan tidak menetes dari bagian kapas tersebut. Mikroorganisme kemudian disebar pada seluruh permukaan lempeng agar dengan cara dioleskan. Untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, kapas lidi dioleskan secara mendatar, kemudian cawan petri diputar 90° dan dibuat olesan kedua, lalu cawan petri diputar lagi 45° dan dibuat olesan ketiga. Cawan petri dibiarkan mengering kurang lebih 5 menit, kemudian tempatkan kertas cakram yang sudah direndam sampel dengan berbagai konsentrasi yang diujikan pada permukaan cawan petri. Konsentrasi yang digunakan adalah 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, dan 4 mg/ml. Dan untuk konsentrasi antibiotic yan digunakan antara lain 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Cawan petri yang sudah ditempelkan kertas cakram diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Setelah bakteri uji sudah tumbuh

merata dan terlihat adanya zona jernih di permukaan agar, maka luas zona jernih dapat diukur dengan mengukur diameternya.



Gambar 4. Tahapan uji aktivitas antibakteri pada berbagai konsentrasi ekstrak (modifikasi Darusman et al. 1994).

- **Uji Spektrofotometri *Ultraviolet Visible* (UV – Vis)**

Pengujian ini digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi sampel yang diamati, kemudian hasilnya digunakan untuk menganalisa karakteristik bioaktif ekstrak *Anadara granosa*. Pengujian ini menggunakan alat spektrofotometer UV – Vis. Menurut Fatimahet al., (2009), cara analisa dengan alat spektrofotometer UV – Vis adalah mula – mula alat dinolkan dengan cara larutan blanko dimasukkan ke dalam dua buah kuvet lalu ditekan “back correct” dan “run”. Setelah alat dalam kondisi nol, salah satu blanko dikeluarkan dan diganti dengan ekstrak *Andara granosa*. Kemudian,

diatur panjang gelombang antara 200 nm – 700 nm. Maka akan muncul tampilan spektrum panjang gelombang dari ekstrak *Anadara granosa*.

- **Uji GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)**

Uji GC-MS dilakukan untuk mengetahui senyawa daya antibakteri dari konsentrasi ekstrak yang terbaik terhadap bakteri *Vibrio cholerae*. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injector 290^oC. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC. Prosedur kerja kromatografi didasarkan pada pemisahan campuran dua atau lebih senyawa yang berbeda yang terdistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya.

3.2.2 Parameter Uji Penelitian

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu parameter kuantitatif berdasarkan data yang diperoleh dari uji daya hambat fraksi etil asetat *Anadara granosa* pada konsentrasi berbeda. Aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening disekeliling *paper disc* dan aktivitas antibakteri dinyatakan negatif apabila tidak terbentuk zona bening. Diameter zona hambat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Zona hambat} = A - B$$

Keterangan :

A = Diameter zona hambat yang terbentuk (mm)

B = Diameter kertas cakram (mm)

3.2.3 Analisis Data

Dalam pengolahan data hasil penelitian untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur digunakan *software SPSS 16.0*. Analisis data pada penelitian pendahuluan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan hubungan interaksi yang terjadi pada selang kepercayaan 95%, apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT 5 %. Sedangkan untuk penelitian utama menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) *One Way* dengan selang kepercayaan 95%, apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT 5 %.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Ekstraksi *Anadara Granosa*

Pada penelitian pendahuluan kerang darah *Anadara Granosa* di ekstrak dengan menggunakan tiga pelarut yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pelarut terbaik untuk mengekstrak kerang darah *Anadara Granosa*. Dari ketiga pelarut yang di ekstrak hasil yang terbaik adalah pelarut etil asetat yang menghasilkan pelarut berwarna coklat pekat. Setelah itu dilakukan proses maserasi kerang darah *Anadara Granosa* segar dengan berat 500gr yang sudah dihaluskan dagingnya. Selanjutnya daging kerang darah di ekstraksi dengan metode ekstraksi yaitu maserasi tunggal. Maserasi dilakukan dengan merendam 500gr daging kerang darag dalam pelarut etil asetat (1:3 b/v) selama 3 x 24 jam. Setelah proses maserasi dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas Whatman no. 1 sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang di peroleh dari hasil maserasi kerang darah berwarna coklat pekat. Hal ini kemungkinan senyawa bioaktif pada kerang darah tertarik keluar oleh pelarut etil asetat. Filtrat kemudian dipisahkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 40°C dan kecepatan putaran 100rpm. Kemudian diperoleh hasil ekstrak kasar berupa cairan pekat berwarna coklat pekat. Berat akhir ekstrak kasar 18,25 sehingga diperoleh % rendemen sebesar 4,56%.

(Lampiran 1).



Gambar 5. Ekstraksi *A. granosa* a.) proses maserasi, b.) filtrat hasil maserasi dan c.) ekstrak kasar

4.1.2 Uji Fitokimia Ekstrak Etil asetat *Anadara Granosa*

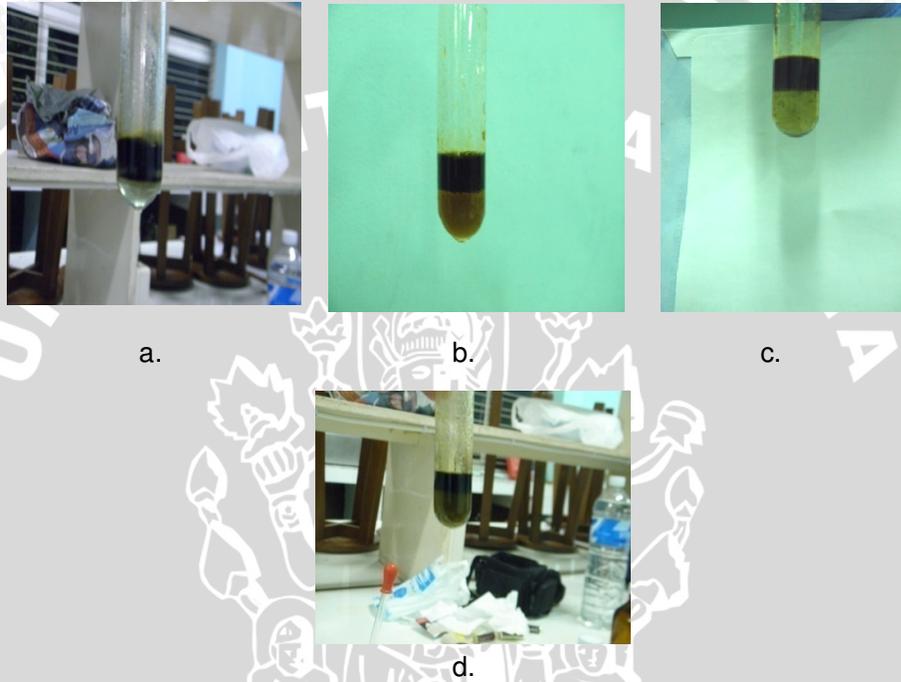
Analisis fitokimia merupakan analisis yang diterapkan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu bahan yang tidak dibutuhkan untuk fungsi normal tubuh, tetapi memiliki efek menguntungkan bagi manusia. Komponen fitokimia bukan merupakan zat gizi karena tanpa komponen tersebut tubuh manusia tetap melakukan metabolisme secara normal, tetapi konsumsi senyawa fitokimia akan membantu meningkatkan kesehatan dan ketahanan tubuh manusia (Astawan dan Kasih 2008).

Hasil uji fitokimia menunjukkan hasil senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Anadara Granosa* (Gambar 6). Senyawa-senyawa yang terdeteksi dalam *Anadara Granosa* antara lain alkaloid, saponin dan steroid, sedangkan senyawa tanin dan flavonoid tidak terdeteksi.

Tabel 1 Uji Fitokimia Ekstrak Etil asetat *Anadara granosa*

Uji	Hasil	Reaksi
-----	-------	--------

Alkaloid		
• Perekasi Mayer	+	Terdapat endapan putih
• Perekasi Wagner	+	Terdapat endapan coklat
• Perekasi Dragendroff	+	Terdapat endapan merah
Steroid	+	Terbentuk warna hijau
Tanin	-	Tidak terbentuk warna biru kehitaman
Flavonoid	-	Tidak terbentuk warna merah atau jingga



Gambar 6. Uji Fitokimia Ekstrak Etil asetat *A.granosa* : a.) Meyer, b.) Wagner, c.) Dragendroff, d.) Steroid

Hasil Uji alkaloid terhadap ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat dinyatakan positif karena ketika direaksikan dengan pereaksi Wagner membentuk endapan berwarna coklat, ketika direaksikan dengan pereaksi Meyer membentuk endapan berwarna putih dan ketika direaksikan dengan pereaksi Dragendorff akan membentuk endapan berwarna jingga.

Alkaloid merupakan grup terbesar senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada produk alami dan sering kali memiliki sifat beracun sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne 1987). Sifat beracun

dari alkaloid memperkuat alasan bahwa ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri.

Uji steroid terhadap ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna hijau. Steroid merupakan senyawa yang dapat dijumpai hampir pada semua makhluk hidup kecuali pada bakteri (Fessenden dan Fessenden 1997). Steroid telah banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, seperti sebagai bahan terapeutik yaitu bahan untuk pengobatan suatu penyakit (Pelczar dan Chan 1988). Yunus (1998) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa steroid dapat digunakan sebagai obat antiinflamasi pada penderita asma sebagai senyawa mampu memerangi kolesterol jahat dalam tubuh dan bermanfaat sebagai afrodisiaka. Pemanfaatan steroid sebagai bahan obat-obatan tersebut dapat memperkuat dugaan adanya senyawa antibakteri pada ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat.

Terdeteksinya saponin ditentukan dengan terbentuknya busa dengan tinggi 1-10 cm dan apabila ditetesi dengan HCl 2N busa tidak hilang maka dapat dinyatakan positif saponin. Saponin merupakan senyawa yang memiliki potensi sebagai antimikroba alami. Menurut Hardiningtyas (2009), saponin dapat berinteraksi dengan membran sterol sehingga terjadi pelepasan protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Selain itu saponin berperan dalam menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel jamur sehingga permeabilitasnya meningkat.

Menurut Daluningrum (2009), bahwa ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder yang berupa alkaloid dan steroid, sedangkan senyawa flavonoid menunjukkan hasil negatif dalam ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat. Verpoorte dan Alfermann (2000) menyebutkan bahwa alkaloid pada tumbuhan berfungsi sebagai

pelindung dari prodator karena bersifat racun pada satwa misalnya serangga, sebagai zat perangsang dan pengatur tumbuh dan membantu aktivitas metabolisme dan reproduksi tumbuhan. Yunus (1998) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa alkaloid memiliki sifat farmakologis, salah satunya adalah memperlebar saluran pernafasan pada penderita sesak nafas. Steroid merupakan senyawa yang dapat dijumpai hampir pada semua makhluk hidup kecuali pada bakteri. Steroid telah banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, seperti sebagai bahan terapeutik yaitu bahan untuk pengobatan suatu penyakit (Fessenden dan Fessenden 1997).

4.1.3 Isolasi Ekstrak Etil Asetat *Anadara Granosa* dengan Kromatografi Kolom

Isolasi pada penelitian ini bertujuan untuk memisahkan dan memurnikan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar *Anadara Granosa*. Substansi campuran senyawa akan dipisahkan menjadi komponen-komponen senyawa yang lebih kompleks. Pemisahan yang dilakukan menggunakan metode kromatografi kolom dan diperkuat dengan kromatografi lapis tipis.

Dalam kromatografi kolom digunakan fase diam *silica gel* GF₂₅₄ dan fase etil asetat:metanol:air (8:2:1-5:5:1). Penggunaan fase gerak dilakukan secara bertahap dalam campuran konsentrasi (etil asetat:metanol:air) dengan tujuan senyawa tersebut memiliki perbedaan kepolaran akan bergerak keluar bergantian sesuai dengan kepolarannya. Proses pemisahan dan pemurnian ekstrak *Anadara Granosa* dengan kromatografi kolom dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Kromatografi Kolom Ekstrak Etil asetat *A.granosa*

Fraksi-fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom selanjutnya diuji dengan kromatografi lapis tipis untuk mengetahui senyawa-senyawa dari masing-masing fraksi. Fase diam pada KLT berupa plat *silica gel* berukuran panjang 5 cm dan lebar 1 cm. Fase gerak yang digunakan berupa campuran n-heksan dan aseton dengan perbandingan 7:3. Tiap fraksi yang diperoleh pada kromatografi kolom ditotolkan pada titik awal plat KLT kemudian di rendam dalam bejana berisi fase gerak. Noda-noda yang terbentuk dari tiap fraksi dikelompokan berdasarkan warna dan nilai R_f yang diperoleh. Hasil dari isolasi dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 2. Fraksi-Fraksi Ekstrak Etil asetat *Anadara granosa* Hasil Kromatografi Kolom

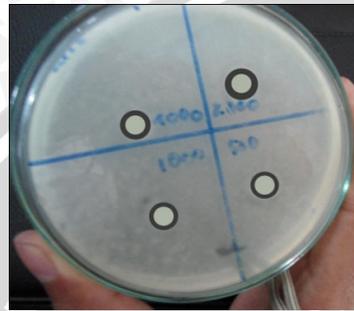
No Botol	Warna	KLT		Fraksi
		Rf	Warna*	
1	Kuning bening	0,4	Coklat	A
2	Kuning pekat	0,1	Coklat	
3	Coklat tua	0,25	Coklat	
4	Coklat pekat	0,16	Coklat	
5	Hitam	0,45	Coklat	
6	Hitam pekat	0,20	Coklat	
7	Coklat pekat	0,75	Coklat	
8	Coklat pekat	0,84	Coklat	
9	Coklat bening	0,20	Coklat	B
10	Coklat bening	0,84	Coklat	
11	Kuning pekat	0,84	Coklat	
12	Kuning	0,66	Coklat	
13	Kuning	0,59	Coklat	
14	Kuning	0,75	Coklat	

Hasil kromatografi kolom menghasilkan 14 botol fraksi kecil (5 ml/botol). Fraksi no 1-8 setelah dilakukan KLT menunjukkan warna coklat dan nilai Rf sebesar 0,4, 0.1, 0.25, 0.16, 0,45, 0,20, 0,75, dan 0,84. Fraksi-fraksi ini dikelompokkan menjadi fraksi besar yaitu fraksi A. Fraksi no 9-14 pada KLT menghasilkan warna coklat dan nilai Rf 0,20, 0,84, 0,84, 0,66, 0,59, dan 0,75. Selanjutnya fraksi-fraksi ini dikelompokkan menjadi fraksi B. Dari pengelompokan hasil kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis dihasilkan 2 fraksi besar yaitu fraksi A dan B. Fraksi-fraksi besar ini yang akan diuji aktivitas antibakteri untuk menentukan fraksi yang paling aktif.

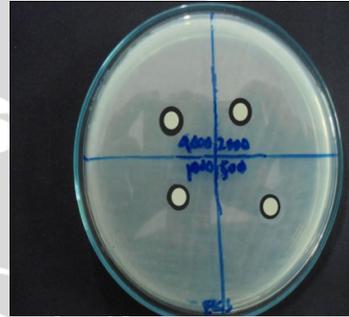
4.1.4 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi *Anadara Granosa* terhadap Bakteri *Vibrio cholerae*

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dari ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat dan bakteri gram negatif *Vibrio cholerae*. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini untuk ekstrak kerang darah dari hasil kromatografi kolom yaitu 500ppm, 1000ppm, 2000ppm, 4000ppm. kemudian untuk konsentrasi kontrol

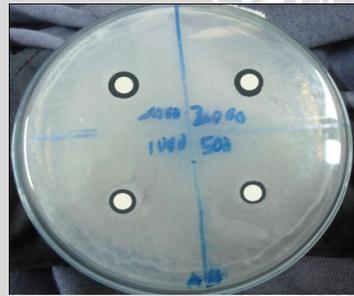
positif antibiotik kloramfenikol yaitu 50ppm, 100ppm, 150ppm, 200ppm. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menentukan fraksi tetraatif dan konsentrasi optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* jika dibandingkan kontrol positif kloramfenikol. Berikut hasil uji daya hambat dapat dilihat **Gambar 8**.



Ulangan 1



Ulangan 2



Ulangan 3



Ulangan 4

Gambar 8. Uji Daya Hambat Ekstrak *Anadara granosa*

Tabel 5. Data Hasil Pengamatan Diameter Daya Hambat

FRAKSI	KONSENTRASI	ULANGAN				TOTAL	RATA-RATA	Std.Dev
		1	2	3	4			
A	500 ppm	2.5	2.6	2.4	2.3	9.8	2.45	0.129099
	1000 ppm	2.8	2.7	2.8	2.9	11.2	2.8	0.08165
	2000 ppm	3.1	3.2	3	3.1	12.4	3.1	0.08165
	4000 ppm	3.8	3.1	3.3	3.4	13.6	3.4	0.294392
B	500 ppm	2.7	2.5	2.5	2.6	10.3	2.575	0.095743
	1000 ppm	3	2.7	3	2.8	11.5	2.875	0.15
	2000 ppm	3.2	3	3.3	3.1	12.6	3.15	0.129099
	4000 ppm	3.5	3.6	3.7	3.4	14.2	3.55	0.129099
Kloramfenikol	50 ppm	4.2	4.4	4.1	4.7	17.4	4.35	0.264575
TOTAL		28.8	27.8	28.1	28.3	113		

Zona hambat yang dihasilkan oleh kloramfenikol pada bakteri *Vibrio cholerae*, lebih besar apabila dibandingkan dengan zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat. Hal ini dikarenakan kloramfenikol mampu menghambat pertumbuhan bakteri dalam spektrum yang luas dalam konsentrasi rendah. Aktivitas antibakteri kloramfenikol tidak bisa dibandingkan dengan aktivitas antibakteri ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat maupun ekstrak kerang darah dengan pelarut metanol dari segi diameter zona hambat yang dihasilkan, tetapi apabila dilihat dari segi keamanan maka ekstrak kerang darah dengan pelarut etil asetat dan ekstrak kerang darah dengan pelarut metanol akan memiliki keunggulan karena sumber bahan bakunya yang berasal dari alam, sedangkan kloramfenikol merupakan senyawa antimikroba sintesis yang berbahaya bagi kesehatan.

Suryawiria (2005), menyatakan bahwa respon hambat dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan pada empat respon seperti yang disajikan pada **Tabel**

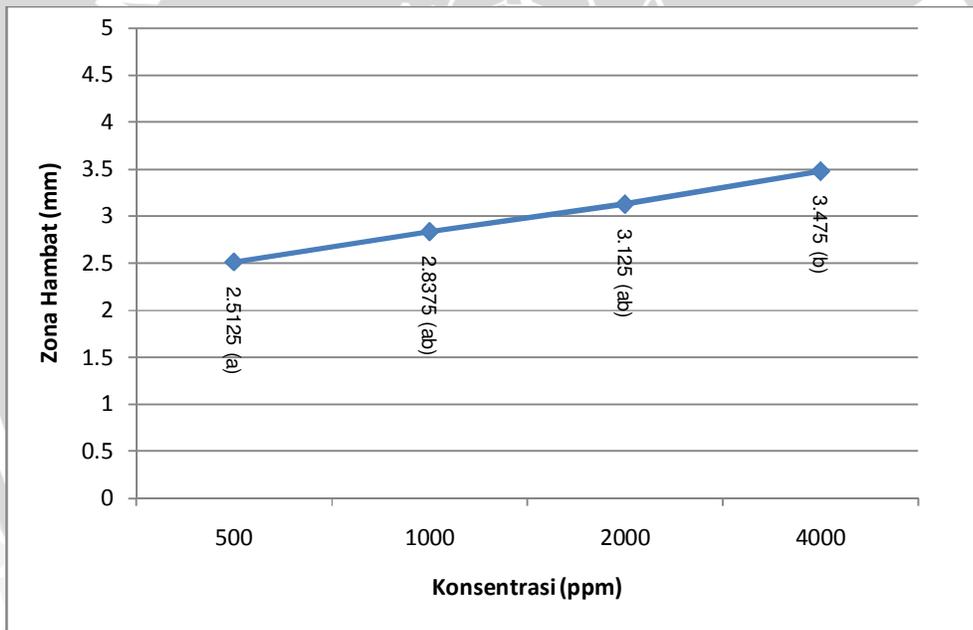
6.

Tabel 6. Klasifikasi Respon Hambat

No	Diameter Zona Bening (mm)	Respon Hambatan
1.	<5	Lemah
2.	5-10	Sedang
3.	10-19	Kuat
4.	>20	Sangat Kuat

Sumber: Suryawiria (2005)

Data pengamatan zona hambat yang terbentuk dan uji BNJ 5% pada penelitian utama dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



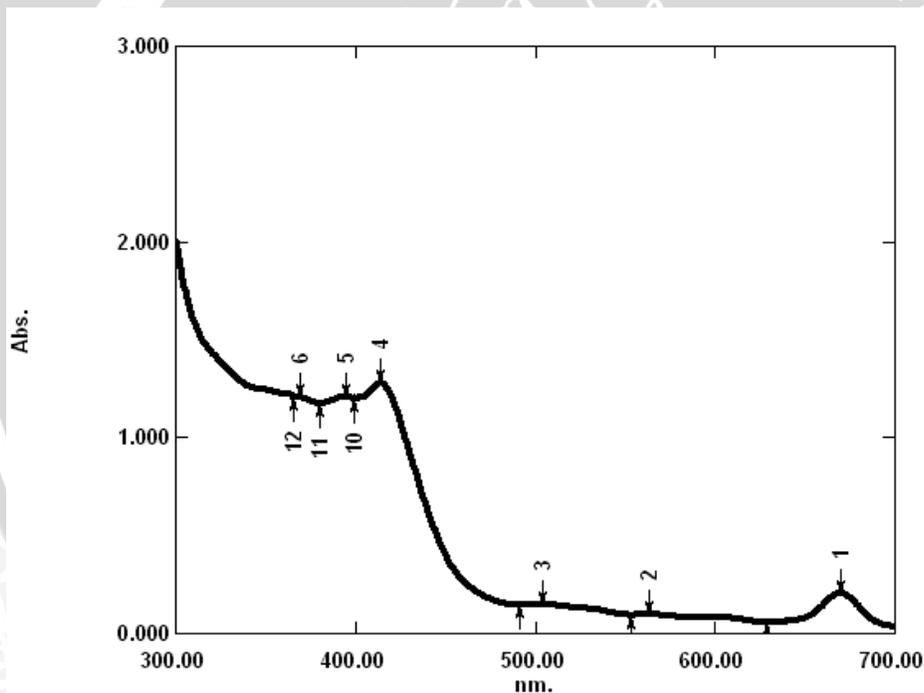
Gambar 9 . Grafik rerata hasil zona hambat dan hasil uji BNJ 5% ekstrak etil asetat *Anadara granosa*

Dari grafik diatas diketahui bahwa rata-rata zona hambat yang terbesar dihasilkan oleh fraksi B pada konsentrasi 4000 ppm yaitu sebesar 3,475 mm. Hasil uji ANOVA BNJ 5% (**Lampiran 2**) diperoleh bahwa fraksi yang terbaik untuk digunakan sebagai uji daya hambat adalah fraksi B. Kemudian konsentrasi

yang terbaik untuk digunakan sebagai uji daya hambat pada *A. granosa* adalah 4000 ppm.

4.2 Analisa Senyawa Antibakteri *Anadara granosa*

Ekstrak etil asetat *Anadara granosa* dianalisa kandungan atau komponen senyawa yang terkandung di dalamnya dengan menggunakan uji Spektrofotometri Ultra Violet (UV-Vis) dan analisis GC-MS. Ekstrak etil asetat di uji Spektrofotometri Ultra Violet (UV-Vis) untuk mengetahui panjang gelombang maksimal yang terdapat pada ekstrak etil asetat *Anadara granosa*. Hasil analisis menggunakan Spektrofotometri Ultra Violet (UV-Vis) dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Spektrum UV-Vis *Anadara granosa*

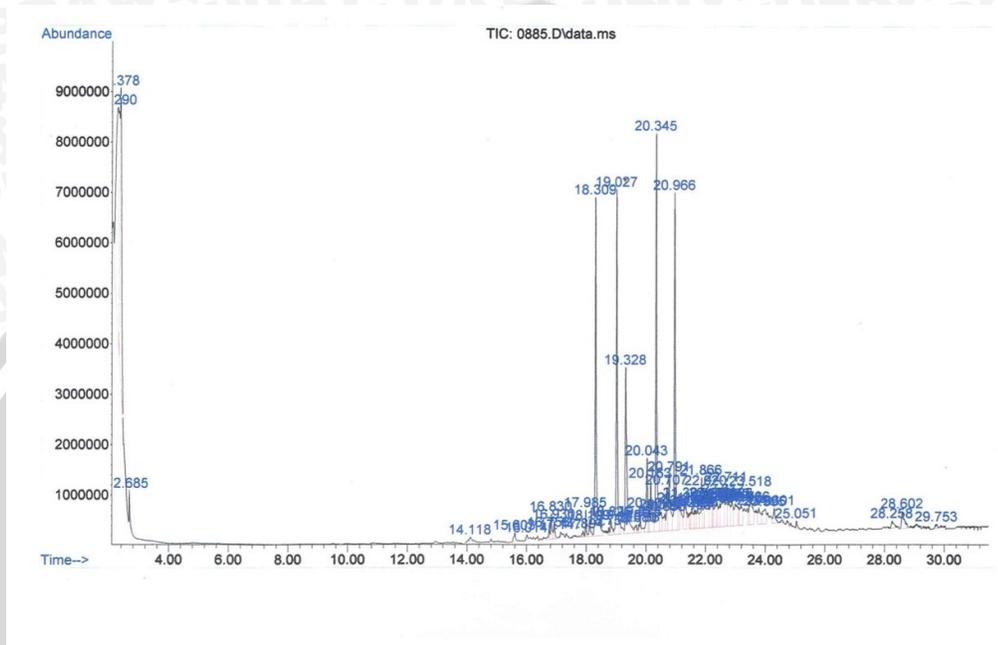
Hasil analisis spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan etil asetat menunjukkan hasil dengan terbentuknya 6 pola pita serapan antara lain pada panjang gelombang 669,50 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,208, pada panjang gelombang 563,50 nm dengan nilai absorbansi 0,097, pada panjang gelombang 504,50 nm dengan nilai absorbansi 0,150. Pada panjang gelombang

414,00 nm dengan nilai absorbansi 1,281, kemudian untuk panjang gelombang 394,50 nm dengan nilai absorbansi 1,209 dan panjang gelombang 369,00 nm dengan nilai absorbansi 1,207. Pada panjang gelombang ini diduga terjadi transisi $n - \pi^*$. Transisi jenis ini juga meliputi transisi elektronelektron heteroatom tak berikatan ke orbital anti ikatan π^* . Pada alkana yang divariasikan terjadi promosi satu elektron pada orbital σ yang terendah ke tingkat tenaga tinggi orbital anti ikatan σ^* .

Serapan yang dihasilkan oleh senyawa triterpenoid atau steroid terdapat pada rentang panjang gelombang ultraviolet yaitu 180-380 nm karena senyawa triterpenoid merupakan senyawa yang tidak berwarna (Harborne, 1987). Pergeseran yang terjadi pada grafik UV vis yaitu pergeseran hipsokromik (pergeseran biru) merupakan pergeseran menuju ke panjang gelombang yang lebih pendek dan perubahan intensitas yang terjadi rendah.

Kemudian warna yang diserap oleh triterpenoid adalah warna hijau dengan panjang gelombang 491-570 nm. Gugus OH pada triterpenoid akan mengalami pergeseran panjang gelombang yang diserap sehingga warna yang ditimbulkan berbeda. Jadi warna merah, ungu atau coklat adalah warna komplementer. Reaksi pembentukan warna ini dapat terjadi karena adanya gugus kromofor (gugus tak jenuh) yang disebabkan oleh absorpsi panjang gelombang tertentu oleh senyawa organik. Senyawa organik dengan konjugasi yang ekstensif menyerap panjang gelombang tertentu karena adanya transisi elektron π ke $\pi\Delta$ dan n ke $\pi\Delta$ sehingga warna yang diserap bukan warna yang tampak melainkan warna komplementernya. Jika sampel mengandung triterpenoid dan steroid sekaligus maka warna yang pertama kali timbul adalah warna triterpenoid kemudian disusul warna steroid. Hal ini disebabkan karena panjang gelombang yang diserap oleh triterpenoid lebih panjang artinya energinya lebih rendah sehingga akan muncul lebih dahulu.

Kemudian untuk analisis senyawa dilanjutkan dengan uji GC-MS untuk mengidentifikasi struktur senyawa dan berat molekul yang terdapat pada ekstrak etil asetat *Anadara granosa*. Hasil uji GC-MS dapat dilihat pada **Gambar 11**.



Gambar 11. Spectrum GC-MS *Anadara granosa*

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa hasil GC-MS ekstrak etil asetat *Anadara granosa* fraksi A terdapat 5 puncak tertinggi. Puncak-puncak tertinggi tersebut muncul karena adanya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *Anadara granosa*. Berikut ini merupakan senyawa dengan puncak tertinggi yang telah diidentifikasi dalam bentuk tabel.

Tabel 7. Senyawa Ekstrak *Anadara granosa* Pada Uji GC-MS

Jenis Senyawa (IUPAC)	Waktu retensi	Persentase area (Kelimpahan)
<i>Octadecanoic acid</i>	20,345	8,34
<i>Octadecanoic acid</i>	20,966	7,89
<i>Octadecanal stearaldehyde</i>	19,328	5,40
<i>Hexadecanoic acid</i>	19,027	6,93
<i>Hexadecanoic acid</i>	18,309	5,40

Pada tabel diatas telah diketahui hasil GC-MS ekstrak etil asetat *Anadara granosa* dengan 5 puncak tertinggi, pada tabel diatas terdapat 5 kandungan senyawa antara lain *Octadecanoic acid*, *Octadecanal stearaldehyde* dan *Hexadecanoic acid*. Senyawa ini merupakan senyawa turunan asam karboksilat.

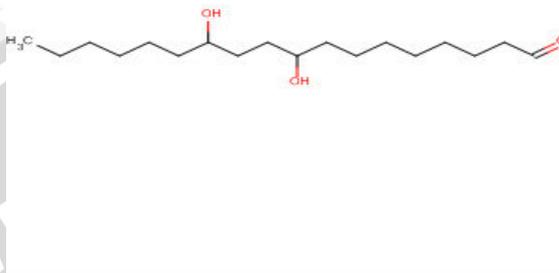
Octadecanoic acid merupakan asam stearat juga disebut asam oktadekanoat, adalah salah satu jenis manfaat asam lemak jenuh yang berasal dari berbagai hewani dan nabati lemak dan minyak. Ini adalah lilin yang solid, dan rumus kimia CH₃ adalah (CH₂)₁₆COOH. Senyawa ini merupakan senyawa turunan asam karboksilat. Menurut Kabara and Eklund (1991), konsentrasi dari asam lemak dengan rantai yang panjang dapat menghambat mikroorganisme khususnya bakteri gram positif, kapang dan khamir. Hal ini didukung oleh Darmadji and Izumimoto (1994) yang menyatakan bahwa, mekanisme kerja octadecanoic acid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu, octadecanoic acid mampu untuk menyerap nutrisi yang ada pada bakteri dan memiliki kapasitas untuk menghambat air dan menghalangi system enzim beberapa bakteri.



Gambar 12. Struktur *Octadecanoic acid*

Octadecanal stearaldehyde termasuk kelas senyawa organik yang dikenal sebagai aldehida lemak. Ini adalah aldehida rantai panjang dengan rantai setidaknya 12 atom karbon. Mekanisme *Octadecanal stearaldehyde* dalam menghambat bakteri yaitu dengan cara gugus hidroksil (-OH) dan gugus aldehyd (-CHO) menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat. Mekanisme

penghambatannya yaitu gugus hidroksil membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif enzim sehingga menyebabkan deaktivasi enzim.

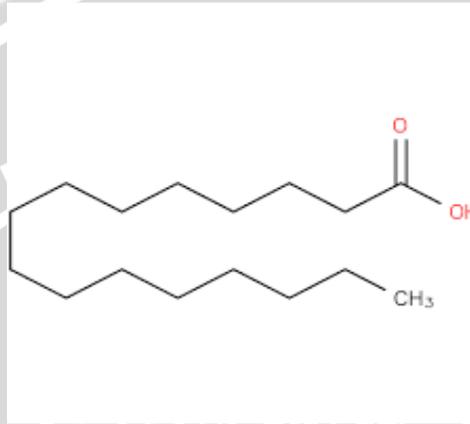


Gambar 13. Struktur *Octadecanal stearaldehyde*

Hexadecanoic acid adalah asam lemak jenuh yang tersusun dari 16 atom karbon ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$). Pada suhu ruang, *hexadecanoic acid* berwujud padat berwarna putih. Titik leburnya $63,1^\circ\text{C}$. *hexadecanoic acid* adalah produk awal dalam proses biosintesis asam lemak. Dari *hexadecanoic acid*, pemanjangan atau penggandaan ikatan berlangsung lebih lanjut. Menurut Kabara and Eklund (1991), konsentrasi dari asam lemak dengan rantai yang panjang dapat menghambat mikroorganisme khususnya bakteri gram positif, kapang dan khamir. Hal ini didukung oleh Darmadji and Izumimoto (1994) yang menyatakan bahwa, mekanisme kerja *hexadecanoic acid* dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu, *hexadecanoic acid* mampu untuk menyerap nutrisi yang ada pada bakteri dan memiliki kapasitas untuk menghambat air dan menghalangi sistem enzim beberapa bakteri.

Menurut Suirta, *et al.*, (2007) menyatakan, bahwa Identifikasi isolat aktif anti larvasida secara GC-MS mengandung 7 komponen senyawa yang merupakan asam-asam organik yaitu asam heksadekanoat, asam stearat, asam oleat, etil oleat, asam oktadekanoat, etil ktadekanoat, dioktil heksadioat. Diduga

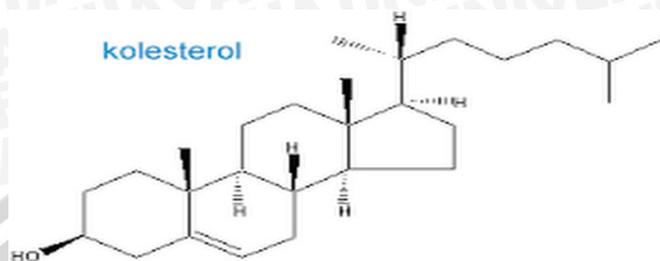
senyawa-senyawa diatas bersifat antilarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Ekstrak etanol dari buah pare (*Momordica charantia L.*) yang mengandung senyawa asam-asam organik, yaitu asam heksadekanoat, asam oktadekanoat, dan ester dioktilheksadioat bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* (Rita, 2007).



Gambar 14. Struktur Hexadecanoic

Di dalam uji GC-MS ekstrak *Andara granosa* terdapat kandungan kolesterol pada RT 28,6024 dengan presentase area 0,95 yang diduga merupakan senyawa turunan steroid. Steroid sendiri merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau sebagai zat antibakteri. Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom 29. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis. Diduga senyawa-senyawa asam lemak yang berperan sebagai antibakteri. Menurut Putra (2007), mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba, adalah dengan merusak membrane plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel yang selanjutnya menyebabkan

kematian sel. Diduga hal tersebut disebabkan karena molekul steroid memiliki gugus nonpolar (hidrofobik) dan polar (hidrofilik) sehingga memiliki efek surfaktan yang dapat melarutkan komponen fosfolipid membrane plasma.



Gambar 15. Struktur Kolesterol

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *Anadara granosa* memiliki zat antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera*. Konsentrasi dari ekstrak etil asetat *Anadara granosa* yang menunjukkan hasil terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae* terdapat pada fraksi B dengan konsentrasi 4000 ppm.

Di dalam hasil uji identifikasi senyawa dengan GCMS menunjukkan bahwa pada fraksi A terdapat kandungan kolesterol pada RT 28,6024 dengan presentase area 0,95 yang merupakan senyawa turunan steroid. Dan selain itu telah di ketahui bahwa hasil uji GC-MS ekstrak *Anadara granosa* terkandung asam lemak. Asam lemak itu sendiri mampu berperan sebagai zat antibakteri. Dengan demikian senyawa tersebut merupakan senyawa golongan steroid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau sebai zat antibakteri.

5.2 Saran

Setelah saya melakukan penelitian ini, saran yang bisa saya berikan adalah untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak *Anadara granosa* terhadap *Vibrio cholerae* dengan menggunakan pelarut berbeda selain etil asetat dan dengan bakteri berbeda. Kemudian disarankan ekstrak dari *Anadara granosa* digunakan sebagai senyawa antioksidan.



DAFTAR PUSTAKA

- Agoramoorthy G, Chandrasekaran M, Venkatesalu V, Hsu M,J. 2007. Antibacterial and Antifungal Activities of Fatty Acid Methyl Esters of The Blind-Your-Eye
- Amelia, Sri. 2005. *Vibrio Cholerae*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Ananta, W.S., I.G.M.P Wijaya., I.G.P Dhinarananta., P.A Yuniadi., M.A Hendrayana. 2013. Identifikasi Serotipe Bakteri *Vibrio Cholerae* Terisolasi Dari Es Bahan Pengawet Ikan Yang Digunakan Oleh Pedagang Hasil Laut Pasar Modern Dan Pasar Tradisional Di Kota Denpasar. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. 2 (4) : 29 – 40.
- Astawan M, Kasih AL. 2008. *Khasiat Warna-Warni Makanan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Baskoro, T. 1994. Mikrobiologi Umum. Gadjia Mada University Press. Yogyakarta
- Broom MJ. 1985. *The Biology and Culture of Marine Bivalvia Mollusca of The Genus Anadara*. Manila: International Centre for Living Aquatic Resources Management.
- Bryan LE. 1982. *Bacterial Resistance and Susceptibility to Chemotherapeutic agents*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Daluningrum IPW. 2009. Penapisan awal komponen bioaktif dari kerang darah (*Anadara granosa*) sebagai senyawa antibakteri [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Darmadji, P. And Izumimoto, M. 1994. Effect of Chitosan in Meat Preservation. Meat Science. University of Newfoundland. Canada **38**, 243-254.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Acuan Sediaan Herbal. Jakarta: Direktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Ditjen POM. (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Departemen Kesehatan. RI. Jakarta. Hal 41.
- Fessenden, R. J dan J. S Fesseden. 1997. Kimia Organik. Terjemahan oleh Pudjaatmaka, A. H. Penerbit Erlangga. Jakarta. 590 hlm.
- Hadioetomo R.S., T Imas., S.S Tjitrosomo dan S.L Angka. 1988. Dasar – Dasar Mikrobiologi 2. UI Press. Jakarta.
- Handayani, D. Maipa, D., Marlina, Meilan. 2007. Skrining Aktivitas Antibakteri Beberapa Biota Laut Dari Perairan Pantai Painan, Sumatera Barat. Makalah. Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Padang

- Harborne J.B. 1987. *Phytochemical methods*. Chapman and Hal Ltd.
- Hardiningtyas, S.D. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton* sp. yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 67 hlm
- Hastari, R. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepah Dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Laporan Hasil Karya Tulis Ilmiah.
- Hendayana S., K Asep., A.A Sumarna., S Asep. 1994. Kimia Analitik Instrumen Edisi Kesatu. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Houghton PJ dan Raman A. 1988. *Laboratory Handbook for Fractination of Natural Extract: Methods of Extraction and Sample Clean-up*. London: Chapman dan Hall Ltd.
- Irianto K. 2006. *Mikrobiologi: Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Bandung: Yrama Widya.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Priperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). Program Studu Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. Skripsi.
- Jawetz, E., J.L Melnick and E Adelberg. 1995. *Medical Microbiology*. Apleton and Lange. New York.
- Kabara, J. J., and T. Eklund. 1991. Organic Acids and Esters. p.23 In N. J Russell and G. W. Gould (ed), *Food Preservatives*. Blackie and Son, Glasgow, UK.
- Khopkar S.M. 2008. Konsep Dasar Kimia Analitik. UI Press. Jakarta.
- Kusmiyati dan N.W.S Agustini, 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Jurnal Biodiversitas* 8 (1) : 48-53.
- Lay, B.W dan S Hastowo. 1992. Mikrobiologi. Rajawali Press. Jakarta.
- Lay, B.H. 1994. Analisis Mikroba Di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Mawengkang, W.H. 2010. Identifikasi *Vibrio* sp. Pada Gonad Ikan Cakalang. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*. 6 (1) : 22 – 31.
- Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential, and motility of bacteria. *Microbiol Res* 152:239-46.
- Ninda. 17-30 April 2008. Be Fit: Brain-Workout. *Olga* 56:88.

Nurjanah, dkk 2005. *Kandungan Mineral dan Proksimat Kerang Darah (Anadara granosa) yang Diambil dari Kabupaten Boalemo, Gorontalo*. Buletin Teknologi Hasil Perikanan, Vol VIII, No.2.

Oemarjati. 1990. Distribusi *Anadara* spp. (Pelecypoda; Archidae) dalam hubungannya dengan karakteristik lingkungan perairan dan asosiasinya dengan jenis-jenis moluska benthik lain di Teluk Blanakan Kabupaten Subang Jawa Barat [tesis]. Bogor: Fakultas Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Pambayun R, Gardjito M, Sudarmadji M, Kuswanto KR. 2007. Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri Ekstrak Produk Gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Majalah Farmasi Indonesia* 3: 141-145.

Pelczar MJr, Chan ECS. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari *Elements of Microbiology*.

Putra, I.N. K. 2007. Study Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.

Rita, W.S.. Suirta, I W dan Sabikin, A. 2007. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. *Jurnal Kimia* 1 (2). 47-54 hal.

Sabir A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Majalah Kedokteran Gigi (Dent J)* 38:135-141.

Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.

Suirta, I W. N. M. Puspawati, dan N. K. Gumiaty. 2007. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif larvasida Dari biji mimba (*Azadirachta indica* a. Juss) terhadap Larva nyamuk demam berdarah (*Aedes aegypti*). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. *Jurnal Kimia* 1 (2). 47-54 hal.

Sunarto. 2008. Peranan Cahaya Dalam Proses Produksi Di Laut. Karya Ilmiah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Bandung

Suryawiria, U. 2005. Mikrobiologi Dasar. Papas Sinar Sinanti. Jakarta.

Suwignyo, Sugiarti, dkk. 1998. Bivalvia Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya.

Tan LWH dan Ng PKL. 2008. Blood Cockle *Anadara granosa*. www.mangrove.nus.edu.sg [7 Maret 2008].

Triyati, E. 1985. Spektrofotometer Ultra-Violet Dan Sinar Tampak Serta Aplikasinya Dalam Oseanologi. *Oseana*, 10 (1) : 39 – 47.

Verpoorte R, Alfermann AW. 2000. *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Belanda: Kluwer Academic Publishers.

Yunus F. 1998. Manfaat Kortikosteroid pada Asma Bronkial. *Cermin Dunia Kedokteran* 121:10-15.



LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Rendemen Ekstrak Etil asetat *Anadara granosa*

Berat sampel segar = 500 gram

Berat sampel setelah disiangi = 400 gram

Berat akhir = 18,25 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{18,25 \text{ gram}}{400 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 4.56 \%$$



Lampiran 2 Prosedur Pengujian Antibakteri Ekstrak *Anadara granosa*

$$\begin{aligned}\text{Media MHA} &= \frac{34}{1000} \times \sum \text{cawan petri} \times 20 \text{ ml} \\ &= \frac{34}{1000} \times 8 \times 20 \text{ ml} \\ &= 5,44 \text{ gr}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Agar miring} &= \frac{34}{1000} \times \sum \text{tabung reaksi} \times 10 \text{ ml} \\ &= \frac{34}{1000} \times 1 \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,34 \text{ gr}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{NaFis 0,9\%} &= \frac{0,9}{100} \times 1 \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,09 \text{ ml}\end{aligned}$$



Lampiran 3. Prosedur Pembuatan DMSO 10% dan Konsentrasi

- **Pembuatan konsentrasi 4000ppm (4 mg/ml)**

$$10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml stok} = 4000 \text{ ppm} \times (x) \text{ ml}$$

$$(x) \text{ ml} = \frac{10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml}}{4000 \text{ ppm}}$$

$$(x) \text{ ml} = 2,5 \text{ ml}$$

Jadi sebanyak 1 ml stok Fraksi A dan B 10000 ppm dilarutkan dengan DMSO 10 % hingga volume 2,5 ml.

- **Pembuatan konsentrasi 2000ppm (3 mg/ml)**

$$10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml stok} = 2000 \text{ ppm} \times (x) \text{ ml}$$

$$(x) \text{ ml} = \frac{10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$(x) \text{ ml} = 5 \text{ ml}$$

Jadi sebanyak 1 ml stok Fraksi A dan B 10000 ppm dilarutkan dengan DMSO 10 % hingga volume 5 ml.

- **Pembuatan konsentrasi 1000ppm (1 mg/ml)**

$$10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml stok} = 1000 \text{ ppm} \times (x) \text{ ml}$$

$$(x) \text{ ml} = \frac{10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$(x) \text{ ml} = 10 \text{ ml}$$

Jadi sebanyak 1 ml stok Fraksi A dan B 10000 ppm dilarutkan dengan DMSO 10 % hingga volume 10 ml.

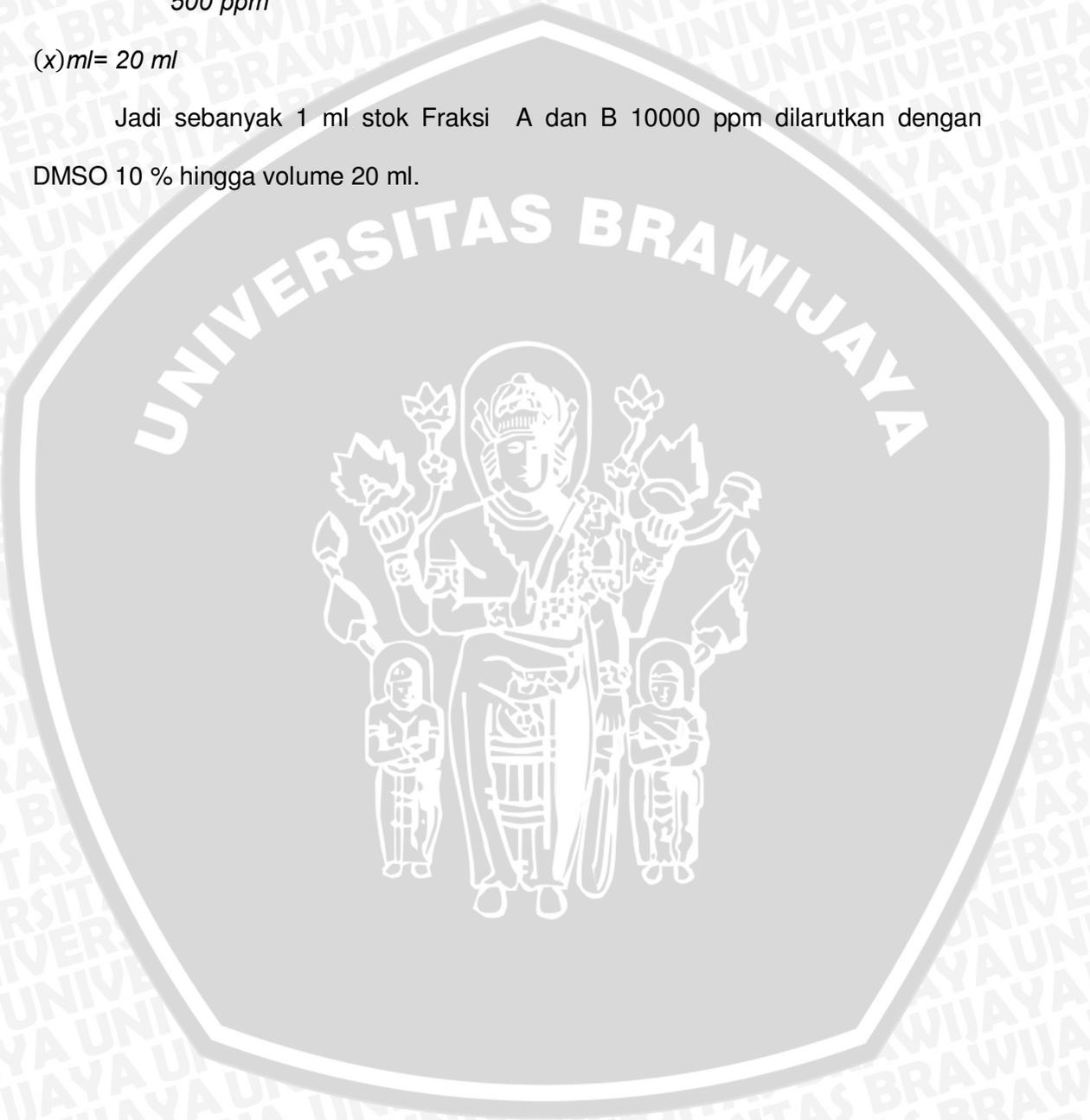
- **Pembuatan konsentrasi 500ppm (1 mg/ml)**

$$10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml stok} = 500 \text{ ppm} \times (x) \text{ ml}$$

$$(x) \text{ ml} = \frac{10000 \text{ ppm} \times 1 \text{ ml}}{500 \text{ ppm}}$$

$$(x) \text{ ml} = 20 \text{ ml}$$

Jadi sebanyak 1 ml stok Fraksi A dan B 10000 ppm dilarutkan dengan DMSO 10 % hingga volume 20 ml.



Lampiran 4. Analisis Keragaman (ANOVA)

- Data Hasil Pengamatan Diameter Daya Hambat

FRAKSI	KONSENTRASI	ULANGAN				TOTAL	RATA-RATA	Std.Dev
		1	2	3	4			
A	500 ppm	2.5	2.6	2.4	2.3	9.8	2.45	0.129099
	1000 ppm	2.8	2.7	2.8	2.9	11.2	2.8	0.08165
	2000 ppm	3.1	3.2	3	3.1	12.4	3.1	0.08165
	4000 ppm	3.8	3.1	3.3	3.4	13.6	3.4	0.294392
B	500 ppm	2.7	2.5	2.5	2.6	10.3	2.575	0.095743
	1000 ppm	3	2.7	3	2.8	11.5	2.875	0.15
	2000 ppm	3.2	3	3.3	3.1	12.6	3.15	0.129099
	4000 ppm	3.5	3.6	3.7	3.4	14.2	3.55	0.129099
Kloramfenikol	50 ppm	4.2	4.4	4.1	4.7	17.4	4.35	0.264575
TOTAL		28.8	27.8	28.1	28.3	113		

• Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
ULANGAN	3	0.105	0.035	1.670		
PERLAKUAN :	7	4.13	0.59	28.159	2.49	3.65
FRAKSI	1	0.08	0.08	3.818	4.32	8.02
KONSENTRASI	3	4.0375	1.345833	64.233	3.07	4.87
FRAKSI KONSENTRASI	3	0.0125	0.004167	0.199	3.07	4.87
GALAT	21	0.44	0.020952			
TOTAL	31	4.675				

$$FK = \frac{\sigma^2}{r \times n} = \frac{(95,6)^2}{32} = 285,605$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total Percobaan} &= 2,5^2 + 2,6^2 + 2,4^2 + \dots + 3,4^2 - FK \\ &= 290,28 - 285,605 \\ &= 4,675 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Ulangan} &= \frac{24,6^2 + 23,4^2 + 24^2 + 23,6^2}{8} - \text{FK} \\ &= \frac{2285,68}{8} - 285,605 \\ &= 0,105 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{9,8^2 + 11,2^2 + 12,4^2 + \dots^2 + 14,2^2}{4} - \text{FK} \\ &= \frac{1158,94}{4} - 285,605 \\ &= 4,13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total Percobaan} - \text{JK Perlakuan} - \text{JK Ulangan} \\ &= 4,675 - 4,13 - 0,105 \\ &= 0,44 \end{aligned}$$

FK	9139.36	285.605	
JK TOTAL	290.28	4.675	
JK ULANGAN	2285.68	285.71	0.105
JK PERLAKUAN	1158.94	289.735	4.13
JK GALAT	0.44		

- Perhitungan dan Notasi BNJ 5%**

$$\begin{aligned} \text{JK V} &= \frac{2209 + 2361,96}{4 \times 4} - \text{FK} \\ &= \frac{4570,96}{16} - 285,605 \\ &= 0,08 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK D} &= \frac{44,01 + 515,29 + 625 + 772,14}{2 \times 4} - \text{FK} \\ &= \frac{2317,14}{8} - 285,605 \\ &= 4,0375 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ (0,05) Fraksi} &= Q(2: 21) \times \sqrt{\frac{KTGalat}{ulangan \times J}} \\
 &= 2,941 \times \sqrt{\frac{0,020952}{4 \times 4}} \\
 &= 2,941 \times 0,0362 \\
 &= 0,1065
 \end{aligned}$$

PERLAKUAN FRAKSI	TOTAL	RATA-RATA ku/ha	2.9375	3.0375	NOTASI
A	47	2.9375	0		a
B	48.6	3.0375	0.1	0	ab

Kesimpulan:

Jadi fraksi B mempunyai potensi yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi A dalam menghambat bakteri

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ (0,05) konsentrasi} &= Q(4: 21) \times \sqrt{\frac{KTGalat}{ulangan \times J}} \\
 &= 3,942 \times \sqrt{\frac{0,020952}{4 \times 2}} \\
 &= 3,942 \times 0,0512 \\
 &= 0,202
 \end{aligned}$$

KONSENTRASI	TOTAL	RATA-RATA ku/ha	2.5125	2.8375	3.125	3.475	NOTASI
500	20.1	2.5125	0				a
1000	22.7	2.8375	0.925	0			ab
2000	25	3.125	0.6125	0.2875	0	0	ab
4000	27.8	3.475	0.6375	0.6375	0.35	0	b

Kesimpulan:

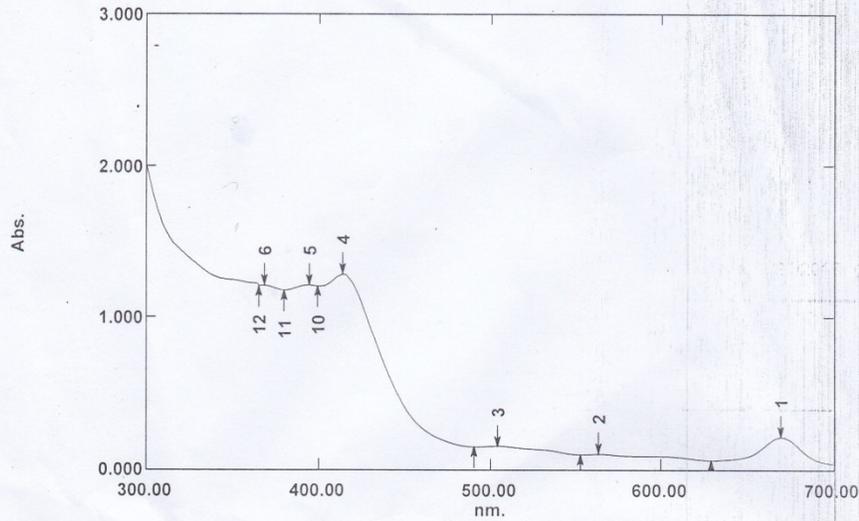
Konsentrasi yang terbaik dalam menghambat bakteri atau sebagai zat antibakteri adalah 4000ppm

Lampiran 5 Hasil Analisa Spektrofotometer UV-Vis

Spectrum Peak Pick Report

10/21/2015 07:48:11 PM

Data Set: SAMPEL KERANG DARAH 2 - RawData



Measurement Properties
 Wavelength Range (nm.): 300.00 to 700.00
 Scan Speed: Fast
 Sampling Interval: 0.5
 Auto Sampling Interval: Enabled
 Scan Mode: Single

Sample Preparation Properties
 Weight:
 Volume:
 Dilution:
 Path Length:
 Additional Information:

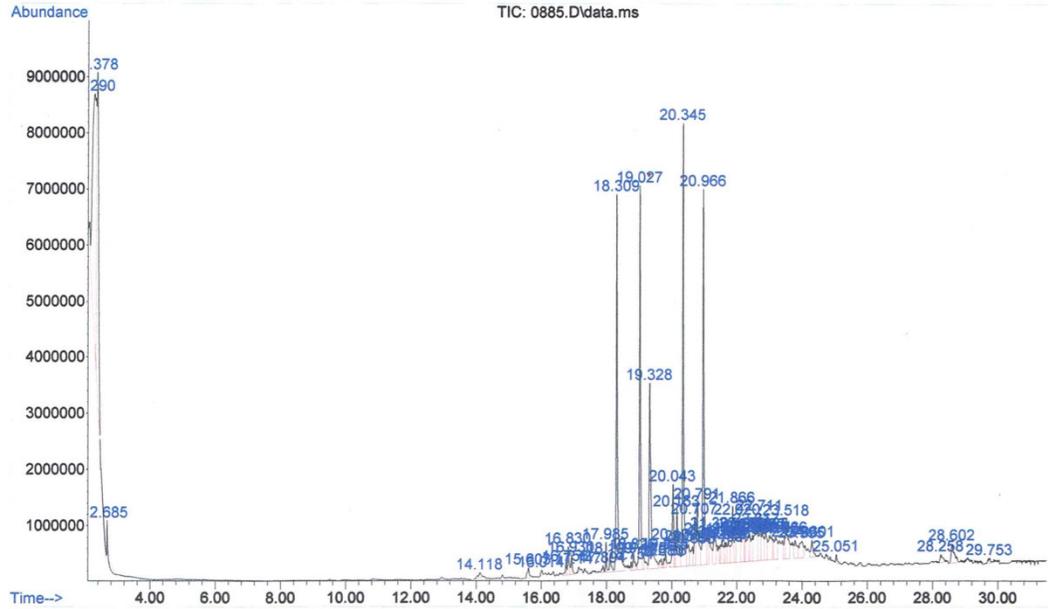
Instrument Properties
 Instrument Type: UV-1600 Series
 Measuring Mode: Absorbance
 Slit Width: 2.0 nm
 Light Source Change Wavelength: 340.8 nm
 S/R Exchange: Normal

Attachment Properties
 Attachment: None

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	669.50	0.268	
2	⊕	563.50	0.097	
3	⊕	504.50	0.150	
4	⊕	414.00	1.281	
5	⊕	394.50	1.209	
6	⊕	369.00	1.207	
7	⊕	628.50	0.056	
8	⊕	553.00	0.094	
9	⊕	491.00	0.144	
10	⊕	399.00	1.202	
11	⊕	380.00	1.176	
12	⊕	365.50	1.205	

Lampiran 6 Hasil Analisa GC-MS

File :D:\Data\2015\0885.D
Operator : che2
Acquired : 3 Sep 2015 14:11 using AcqMethod NARKOBA.M
Instrument : GCMSD5975C
Sample Name: Kerang Tanah kode A
Misc Info : Hafid Lana (UB)
Vial Number: 1



Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



1. Sampel segar *A. Granosa*



2. *A. Granosa* dipotong kecil-kecil dan diangin-anginkan



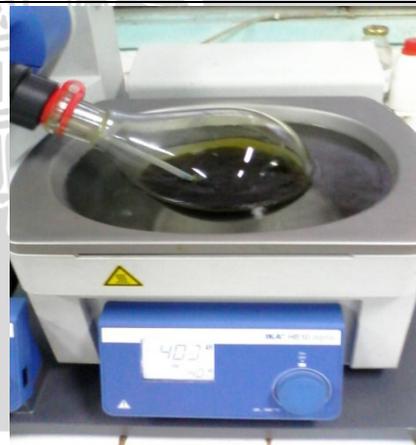
3. Sampel yang sudah di blender



4. Maserasi 1:3 Etil asetat



5. Hasil Maserasi



6. Proses Evaporator



7. Ekstrak kasar *A. Granosa*



8. Uji fitokimia



9. Kromatografi kolom



10. Hasil kromatografi kolom



11. Uji KLT



12. Uji daya hambat



13. Ekstrak kasar *A. Granosa*



14. Analisa spektrofotometri Uv-Vis



15. Analisa GC-MS

