# BRAWIJAYA

## UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ALGA COKLAT SargassumechinocarpumSEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI Salmonella typhii

#### **LAPORAN SKRIPSI**

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh: ULUL ALBAB PUTRA NIM. 115080300111051



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2017



# BRAWIJAYA

### UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ALGA COKLAT (Sargassum echinocarpum) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI Salmonella typhii

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

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

Oleh : ULUL ALBAB PUTRA NIM. 115080300111051



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2017

#### SKRIPSI DAYA HAMBAT EKSTRAK KASAR MIKROALGA Chlorella vulgaris TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus

Oleh: **ULUL ALBAB PUTRA** NIM. 115080300111051

Telah dipertahankan didepan penguji Pada tanggal 16 Maret 2017

Menyetujui,

Dosen Penguji I,

Dosen Pembimbing I,

(Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes) NIP. 19611022 198802 2 001 Tanggal: 1 0 AFK

Dosen Penguji II,

(Dr.Ir. Happy Nursyam, MS) NIP. 198600322198601 1 001 Tanggal: 1 0 APR 2017

RAWINAL (Alm. Dr. Ir. Kartini Zaelanie, MS) NIP. 19550503 198503 2 001

Tanggal: 19 6 APP

Dosen Pembimbing II,

(Dr.Ir. Yahya, MP) NIP. 19630706 199003 1 003 Tanggal: 1 0 APK / 2

Mengetahui, Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wildleng Ekawati, MS) NIP. 19620805 198803 2 001

Tanggal : 1 n APR 2017

**ULUL ALBAB PUTRA** laporan skipsi tentang Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Coklat (*Sargassum echinocarpum*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. (dibawah bimbingan Dr.Ir. Kartini Zaelanie, MS dan Dr. Ir. Yahya, MP)

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Penanganan Hasil Perikanan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium PT. Gelora Djaja Surabaya, Jatim. Pada Januari 2016 – Maret 2016.

Maksud dari penelitian ini adalah mengetahui Tingkat efektivitas ekstrak kasar Sargassum echinocarpum terhadap bakteri Salmonella typhi dengan konsentrasi dan pelarut yang berbeda dengan metode uji cakram. Dan untuk Mengetahui senyawa bioaktif dalam Sargassum echinocarpum yang didapatkan dari uji fitokimia dan GC-MS.

Metode penelitian pada penelitian ini adalah kuantitatif. Dari teori-teori yang didapatkan sebelumnya diolah hingga menhasilkan suatu data yang dianalisa dengan RAL faktorial. Variabel bebas dalam penelitian adalah penggunaan jenis pelarut polar metanol pro analisis dan etanol pro analisis menggunakan DMSO 10% sebagai kontrol. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri pada bakteri yaitu *Salmonella typhi* yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

Proses dari penelitian ini adalah bahan baku *Sargassum echinocarpum* segar didatangkan dari kabupaten Madura. Setelah itu dibersihkan, lalu dijemur hingga kering. Selanjutnya dilakukan proeses pendebuan untuk mendapatkan hasil filtrat yang baik. Setelah itu dilakukan ekstraksi terbagi menjadi 2 perlakuan dan evaporasi adalah penguapan pelarut untuk menghasilkan ekstrak kasar. Dilakukan uji cakram untuk mengetahui efektivitas dengan konsentrasi yang berbeda dari masing-masing pelarut yang berbeda menggunakan 4 ulangan. Dilakukan uji fitokimia, *MIC* dan *MBC*, dan uji GC-MS untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak kasar *Sargassum echinocarpum*.

Hasil didapatkan jumlah rata-rata dari setiap perlakuan mulai dari kontrol DMSO 10% tanpa ekstrak hingga menggunakan konsentrasi 10.000 ppm. Kontrol DMSO 10% didapatkan rata-rata 1,6 mm pada metanol dan 1,7 mm pada kontrol etanol. Konsentrasi 500 ppm dengan pelarut metanol memiliki rata-rata zona hambat sebesar 3,38 mm dan dengan pelarut etanol memiliki zona hambat sebesar 2,35 mm. Konsentrasi 5000 ppm dengan pelarut metanol didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 4,15 mm dan dengan pelarut etanol didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 3,2 mm. Konsentrasi 10.000 ppm dengan menggunakan pelarut metanol didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 4,91 mm dan dengan pelarut etanol didaptkan rata-rata zona hambat sebesar 4,5 mm.

Dan hasil uji fitokimia dari *Sargassum echinocarpum* terdapat senyawa flavonoid, terpenoid tannin dan steroid. Untuk hasil *MIC* pada konsentrasi 75% sebesar 115 cfu/ml. Dan untuk hasil GC-MS didapatkan urutan puncak tertinggi adalah Hexadecanoic acid dan Benzofuran.

#### **KATA PENGANTAR**

Segala puji dan ucapan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penulisan laporan skripsi ini dengan judul Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Alga Coklat (Sargassum echinocarpum) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Salmonella typhii. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki dalam menyelesaikan laporan ini. Dengan adanya kritik dan saran dari pembaca nantinya diharapkan dapat menambah kesempurnaan laporan ini agar menjadi lebih bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 16 Maret 2017

**Penulis** 

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan ini tidak akan tersusun tanpa bantuan dari berbagai pihak, rasa hormat dan terima kasih penulis sampaikan kepada:

- Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya;
- Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan hingga akhir di sini.
- 3. Dr. Ir. Kartini Zaelanie, MS selaku dosen pembimbing I dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, nasehat dan motivasi hingga laporan ini selesai.
- 4. Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes dan Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran pada laporan skripsi ini.
- 5. Ir. Mustofa Kamal dan Endang Winarti sebagai orang tuaku yang senantiasa sabar dan memberikan dukungan, semangat dan doa.
- Ulul Azmi Putri dan Hana Suci Awi Ainul Bashiroh sebagai adik-adikku yang senantiasa memberikan dukungan dan doa.
- Ingasunti Makatwurih Wibisono atas bantuan, perhatian, semangat, kesabaran dan 7. komunikasinya.
- 8. Sahabat-sahabat saya yang sedia setiap saat ; Mbah Bagus, Rajiv Hamim (Godel), Tiara Faralov, Anton Blaghadus, Febri Wahyu, Prima Ardianti, Beta ditry, Oenkcubluk, Agungre dan AgungWP atas dukungan dan bantuannya yang tak akan terlupakan.
- 9. Teman-teman satu tim; Naning, Fitri, Morgan dan Kinan.
- 10. Teman-teman THP 2011 yang tidak bisa kusebutkan namanya satu persatu, yang telah memberikan masukan, semangat serta sumbangan pemikiran.

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, 16 Maret 2017 Mahasiswa

Ulul Albab Putra

#### DAFTAR ISI

Ha	lam	an

	ALAMAN HALAMAN JUDUL	
	EMBAR PENGESAHAN	
	NGKASAN	
	ATA PENGANTAR	
	CAPAN TERIMAKASIH	
PE	ERNYATAAN ORISINALITAS KATA PENGHANTAR	vi
	AFTAR ISI	
D	AFTAR GAMBAR	ix
D	AFTAR TABEL	X
	VEHITEROLE	
1.	PENDAHULUAN	
	1.1 Latar Belakang	1
	1.2 Rumusan Masalah	2
	1.3 Tujuan Penelitian	3
	1.4 Hipotesis	3
	1.5 Kegunaan Penelitian	
	1.6 Waktu dan tempat	4
2.	TINJAUAN PUSTAKA	
	2.1 Deskripsi Sargassum echinocarpum	5
	2.2 Manfaat Sargassum echinocarpum	6
	2.3 Senyawa Bioaktif	7
	2.1 Deskripsi Sargassum echinocarpum	7
	2.5 Ekstraksi	8
	2.6 Pelarut	9
	2.6.1 Metanol (CH3OH)	10
	2.6.2 Etanol (C2H5OH)	10
	2.6.3 DMSO (Dimethyl-sulfoxide) [(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO]	11
	2.7 Uji Cakram	12
	2.8 Uji Dilusi ( <i>MIC/MBC</i> )	13
	2.9 Uji GC-MS 2.10 Fitokimia	14
	2.10 Fitokimia	14
	2.10.1 Flavonoid	
	2.10.2 Steroid	16
	2.10.3 Terpenoid	
	2.10.4 Alkaloid	
	2.10.5 Saponin	
	2.10.6 Tanin	
	2.11 Salmonella typhii	18
3.	METODE PENELITIAN	
	3.1 Materi Penelitian	
	3.1.1 Bahan Penelitian	
	3.1.2 Alat Penelitian	22
	3.2 Metode Penelitian	
	3.2.1 Variabel Penelitian	
	3.2.2 Parameter Uji	25
	3.2.3 Analisi Data	26
	3.3 Prosedur Penelitian	
	3.3.1 Persiapan Bahan Baku	
	3.3.2 Ekstraksi	26

3.3.3 Uji Cakram	28
3.3.2 Úji Dilusi ( <i>MIC/MBC</i> )	31
3.3.4 Uii GC-MS	32
3.3.5 Uji Fitokimia	33
4. Pembahasan	
4.1 Hasil Uji Cakram	41
4.2 Uji Fitokimia	43
4.2.1 Flavonoid	43
4.2.2 Terpenoid	44
4.2.3 Tanin	44
4.2.4 Steroid	
4.3 Uji MIC dan MBC	
4.4 Identifikasi Senyawa Aktif (GC-MS)	
5. Penutup	
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	
J.Z Saiaii	





#### DAFTAR GAMBAR

Gamb	ar NIX TO THE STATE OF THE STAT	Halaman	
1.	Sargassum echinocarpum	5	
2.	Rumus Molekul Metanol	10	
3.	Rumus Molekul Etanol	11	
4.	Rumus Molekul DMSO		
5.	Rumus Molekul Flavonoid		
6.	Rumus Molekul Steroid	16	
7.	Rumus Molekul Terpena		
8.	Rumus Molekul Alkaloid		
9.	Rumus Molekul Saponin	17	
	Bakteri Salmonella typi		
	Ekstraksi Sargassum echinocarpum		
12.	Pelarutan DMSO 500, 5000, 10000 ppm	29	
13.	Uji CakramUji MIC Metode Dilusi	30	
14.	Uji MIC Metode Dilusi	31	
15.	Uji MBC Metode Penanaman Tuang	32	
	Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid		
17.	Uji Fitokimia Senyawa Tanin	36	
18.	Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid	37	
19.	Uji Fitokimia Senyawa Saponin	38	
20.	Uii Fitokimia Senyawa Steroid	39	
21.	Uji Fitokimia Senyawa Terpenoid	39	
22.	Skema Kerja Penelitian	40	
23.	Hasil terbaik ekstrak Sargassum echinocarpum dengan pelai	rut metanol	dan
met	anolterhadap Salmonella typhii	41	
24.	Rata-rata zona hambat bakteri Salmonella typhii	42	
25.	Spektra Gas Kromatografi Ekstrak Sargassum echinocarpun	າ47	
	Struktur Asam Heksadekanoat		
27.	Benzofuran	49	

Tá	abel	Halaman
	1. Konstanta dielektri dan kelarutan beberapa pelarut yang diguna	kan10
	2. Rancangan data pengamatan	25
	3. Klasifikasi Respon Hambatan	
	4. Pengenceran konsentrasi ekstrak 10000 ppm dalam akuades	
	5. Uji Fitokimia Ekstrak Alga Coklat Sargassum echinocarpum	43
	6. Úji <i>MIC</i> dan <i>MBC</i>	



#### 1. PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Masyarakat Indonesia telah lama mengembangkan dan menerapkan penggunaan obat-obatan alami atau yang dikenal dengan obat tradisional. Obat tradisional lebih mudah diterima, karena obat ini murah, mudah didapat serta relatif aman apabila dibandingkan dengan obat sintetik. Berbagai macam obat tradisional yang berasal dari tanaman telah banyak diteliti kandungan kimia dan khasiat didalamnya. Namun masih banyak tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut (Wikanta *et al.*, 2010).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat alami adalah alga. Alga mengandung senyawa aktif yang mana memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan pengobatan (Nursid et al., 2013). Alga adalah salah satu sumberdaya alam hayati laut yang memiliki nilai ekonomis. Berbagai jenis alga telah dimanfaatkan secara komersial didunia dan sekitar 65% diantaranya dijadikan sebagai bahan makanan manusia. Menurut hasil penelitian, alga banyak memiliki manfaat diantaranya dalam bidang obat-obatan, industri, energi, dan makanan (Langoy et al., 2011). Alga coklat, hijau, ataupun merah berpotensi memiliki senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat salah satunya dalam bidang pengembangan industri farmasi yang digunakan untuk anti kanker, anti bakteri, anti tumor (Siregar et al.,2012). Salah satu alga yang banyak tumbuh di wilayah Indonesia adalah alga coklat.

Senyawa aktif pada rumput laut mengandung berbagai bioaktivitas sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal. Rumput laut coklat merupakan sumber dari metabolit yang bernilai ekonomi seperti karotenoid, laminarin, alginat, fukoidan, manitol dan florotanin (Nursid *et al.*, 2013).

Sebagian besar alga yang memiliki bioaktivitas yang berbeda-beda mulai dari antibakteri, antifungi, antikanker dan sebagainya merupakan kelompok alga coklat, terutama dari kelompok *Sargassum* dan *Turbinaria*. Beberapa jenis alga coklat antara lain *Sargassum cinereum*, *Sargassum hemiphyllum*, *Sargassum polycystum*,

Sargassum echinocarpum dan Turbinaria decurrens ditemukan di perairan Sulawesi Selatan (Rasyid, 2012).

Ekstrak alga coklat jenis *Sargassum* menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan yang maksimal terhadap beberapa jenis bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa, Sthapylococcus aureus, Salmonella typhii, dan Escherichia coli,* dimana hal tersebut dapat diketahui setelah dilakukan suatum percobaan secara in vitro (Sastry dan Rao, 1994). Alga coklat *Sargassum sp.* memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare (Sastry dan Rao, 1994).

Zat antimikroba adalah senyawa biologis atau kimia yang menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba. Zat antimikroba khusus untuk bakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) dan bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) (Fadriaz,, 1992). Beberapa alga yang berasal dari perairan indonesia ditemukan memiliki senyawa aktif yang sifatnya sebagai antimikroba terhadap bakteri patogen (Singkoh, 2011).

#### 1.2. Rumusan Masalah

Pemanfaatan Sargassum echinocarpum masih memerlukan kajian yang meliputi:

- Tingkat efektivitas ekstrak kasar *Sargassum echinocarpum* terhadap bakteri *Salmonella typhi* dengan konsentrasi dan pelarut yang berbeda?
- Untuk mengetahui konsentrasi daya hambat dan daya bunuh bakteri dari senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak kasar Sargassum echinocarpum terhadap daya hambat Salmonella typhii?.
- Untuk mengetahui Senyawa bioaktif yang terdapat dalam Sargassum echinocarpum?

## BRAWIJAYA

#### 1.3. Tujuan Penelitian

- Tingkat efektivitas ekstrak kasar Sargassum echinocarpum terhadap bakteri Salmonella typhi dengan konsentrasi dan pelarut yang berbeda dengan metode uji cakram.
- Untuk mengetahui konsentrasi daya hambat dan daya bunuh bakteri
  dari senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak kasar
  Sargassum echinocarpum terhadap daya hambat Salmonella typhii
  dengan metode Uji dilusi (MIC dan MBC).
- Mengetahui senyawa bioaktif dalam Sargassum echinocarpum yang didapatkan dari uji fitokimia dan GC-MS.

#### 1.4. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah:

H0 : Penambahan pelarut dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap aktivitas bakteri *Salmonella typhii*.

H1 : Penambahan pelarut dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap aktivitas bakteri *Salmonella typhii*.

#### 1.5. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

- Para peneliti selanjutnya mengerti bahwa dengan konsentrasi yang lebih tinggi dan pelarut terbaik ekstrak Sargassum echinocarpum menghasilkan daya hambat yang lebih besar.
- Para peneliti mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam Sargassum echinocarpum.

#### 1.6. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Keamanan Hasil

BRAWIJAYA

Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, PT. Gelora Djaja, Tandes Surabaya, pada Januari – Maret 2016.



#### 2. TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Deskripsi Sargassum echinocarpum

Sargassum adalah salah satu rumput laut yang banyak terdapat di perairan Indonesia. Rumput laut cokelat ini kaya akan zat gizi dan bioaktif. Ada 11 jenis Sargassum yang ditemukan di perairan Indonesia, yaitu: Sargassum binderi, S. crassifolium, S. plagyophyllum, S. mollerii, S. siliquosum, S. hystrix, S. gracilimum, S. duplicatum, S. cinereum, S. polycystum dan S. echinocarpum. Sargassum sp. atau alga cokelat merupakan salah satu genus Sargassum yang termasuk dalam kelas Phaeophyceae. Sargassum sp. mengandung bahan alginat dan iodin yang bermanfaat bagi industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Kadi, 2008).

Sargassum merupakan bagian dari kelompok rumput laut coklat (Phaeophyceae) dan genus terbesar dari famili atau suku Sargassaceae. Sargassum echinocarpum dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1**. Sargassum echinocarpum Sumber: (Anonymous, 2015)

Klasifikasi Sargassum echinocarpum menurut Atmadja et al., (1996) adalahsebagai

#### berikut

Divisi : Phaeophyta Kelas : Phaeiphyceae Bangsa : Fucales

Suku : Sargassaceae Marga : Sargassum

Jenis : Sargassum echinocarpum

Alga merupakan salah satu biota laut yang melimpah di perairan Indonesia, temasuk di Pulau Talango kabupaten Sumenep Madura. Beberapa jenis alga telah

dilaporkan menunjukkan aktivitas antimikroba terutama dari kelompok alga coklat Sargassum dan Turbinaria (Arifuddin et al., 2001). Pengolahan atau pemanfaatan jenis alga tersebut menghasilkan ekstrak berupa senyawa alginat yang banyak dimanfaatkan dalam pembuatan obat antibakteri, pengobatan kanker serta menurunkan kadar kolestrol dalam darah (Rachmat, 1999).

Sargassum sp. juga telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam bidang industri makanan, farmasi, kosmetika, pakan, pupuk, tekstil dan kertas. Hasil ekstraksi Sargassum sp. berupa alginat banyak digunakan industri makanan untuk memperkuat tekstur atau stabilitas dari produk olahan, seperti es krim, sari buah, pastel isi, dan kue. Sargassum sp. juga telah dimanfaatkan di bidang farmasi dan ternak (Poncomulyo et al., 2006).

#### 2.2. Manfaat Sargassum echinocarpum

Kandungan dari Sargassum sp adalah Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare. Diare adalah sebuah penyakit di mana penderita buang air besar yang sering dan masih memiliki kandungan air mengalami berlebihan (Sastry dan Rao, 1994).

Sargassum sp mengandung fukoidan dan komponen fenolik. Jenis komponen fenollik yang terdapat pada rumput laut coklat adalah jenis phlorotanin yang berkisar antara 0, 74% sampai 5,06%. Pada Sargassum duplicatum secara kualitatif mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan terpenoid (Septiana dan Ari, 2012).

Rumput laut coklat dengan jenis Sargassum echinocarpum mempunyai beberapa kandungan fitokimia diantaranya adalah tannin, polifenol, saponin, glikosida dan steroid. Saponin pada Sargassum echinocarpum dianggap lemah karena kemungkinan keberadaan glikon dan steroidnya (Firdaus et al., 2012). Saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa steroid atau titerpenoid.Sedangkan steroid yang terkandung dalam sargassum sp utamanya berupa fukosterol dan saringosterol (Springbob dan Kutchan, 2009).

#### 2.3. Senyawa Bioaktif

Bioaktif adalah zat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang memiliki manfaat kesehatan dalam tubuh. Ditinjau secara biologi, alga merupakan kelompok tumbuhan yang berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. Alga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif (Simanjuntak, 1995).

Senyawa yang terdapat di rumput laut adalah fenol. Senyawa fenol ini memiliki ciri yakni cincin aromatik yang mengandung 2 penyulih hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Senyawa fenol memiliki aktifitas sebagai antibakteri. Sementara bagi tanaman, senyawa fenol berperan sebagai bahan pembangun dinding sel, sebagai pigmen. Namun kemampuannya membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan tunggal dapat mengganggu dalam penelitian. Selain itu, fenol juga peka terhadap oksidasi enzim dan mungkin hilang pada proses isolasi akibat kerja enzim fenolase yang terdapat pada tumbuhan (Harborne, 1987).

#### 2.4. Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunkan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektifitas, berati obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri, tetapi relatif tidak membahayakan bagi hospes. Ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisida) kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya masig-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Anti bakteri tertentu aktifitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 2005).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan anti bakteri oleh senyawa anti bakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesi asam nukleat dan protein. Dibidang farmasi, bahan antibakteri dikenal denan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteri statik, bakterisida, dan bakterilitik (Agustin *et al.*, 2006).

#### 2.5. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu komponen dari suatu campuran berdasarkan proses distribusi terhadap dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Ekstraksi digolongkan kedalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair padat, ekstarksi cair padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi (Harborne, 1987). Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan yang dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang katalis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali (Sa'ad, 2009).

Proses ekstraksi senyawa antibakteri dapat digunakan dengan dua cara, yaitu aqueus phase dan organic phase. Ekstraksi aqueus phase dilakukan dengan pelarut air, sedangkan ekstraksi organic phase menggunakan pelarut organik. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Agustin et al., 2006).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut organik yang digunakan

pada suhu ruang. Proses ini sangat mengntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan zat pelarut dalam maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperlihatkan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut (Darwis, 2000).

ITAS BR

#### 2.6. Pelarut

Pelarut merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan dalam proses ekstraksi. Pemilihan pelarut didasarkan pada kemampuan dan kelarutannya dalam mengekstrak senyawa yang diinginkan (Guenther, 1987). Pelarut yang baik untuk digunakan dalam proses ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap senyawa yang diekstraksi. Daya melarutkan tersebut berhubungan dengan polaritas pelarut dan polaritas senyawa yang diekstraksi (Vogel, 1987). Beberapa sifat pelarut yang ideal antara lain memiliki selektifitas yang tinggi terhadap senyawa yang diektraksi, memiliki perbedaan titik didih dan densitas yang cukup besar, bersifat inert, tidak beracun, memiliki viskositas yang kecil, tidak bersifat korosif, tidak mudah terbakar, tidak bersifat reaktif terhadap senyawa yang diekstraksi, murah dan mudah didapat (Yasita dan Rachamawati, 2013).

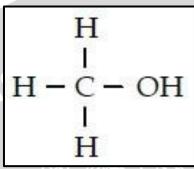
Bahan-bahan dan senyawa kimia akan mudah larut dalam bahan pelarut yang memiliki polaritas yang sama. Secara fisika, tingkat polaritas suatu pelarut ditunjukkan dengan nilai konstanta dielektrik. Suatu pelarut disebut semakin polar apabila semakin besar nilai konstanta dielektriknya (Sudarmadji *et al.*, 2007). Pelarut yang bersifat polar cenderung melarutkan senyawa yang bersifat polar, dan sebaliknya pelarut non polar cenderung melarutkan senyawa non polar (Vogel, 1987). Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutannya dalam air beberapa jenis pelarut yang umum digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Pelarut	Konstanta dielektrik	Kelarutan dalam air
Metanol	33	Larut
Etanol	30	Larut
DMSO	47	Sedikit

Sumber :Lide, 2015

#### 2.6.1. Metanol (CH3OH)

Metanol merupakan bentuk alkohol paling sederhana, rumus kimia metanol ialah CH<sub>3</sub>OH.



Gambar 2. Rumus Molekul Metanol(Google image, 2016)

Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, wood alcohol atau spiritus. Pada keadaan atmosfer, metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan dibandingkan etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar, dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri. (Hikmah et al., 2010).

Metanol biasa digunakan sebagai pelarut organik, merupakan jenis alkohol yang mempunyai struktur paling sederhana.

#### 2.6.2. Etanol (C2H5OH)

Etanol atau Ethylalcohol (C2H5OH) termasuk kelompok hydroksil yang memberikan polaritas pada molekul dan mengakibatkan meningkatnya ikatan hidrogen intermolekuler.

Gambar 3. Rumus Molekul Etanol(Google image, 2016)

Etanol ini merupakan cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, jernih dan tidak berwarna. Etanol memiliki massa jenis 0,7893 g/mL. Titik didih etanol pada tekanan atmosfer adalah 78,32°C. Etanol digunakan pada berbagai produk meliputi campuran bahan bakar, produk minuman, penambah rasa, industri farmasi dan bahan-bahan kimia (Kurniawan *et al*, 2010).

Etanol merupakan cairan jernih tak berwarna, rasanya pahit, mudah menguap, larut dalam air dalam semua perbandingan yang bersifat hipnotik. Keguanaan etanol selain sebagai pelarut, antiseptik, minuman, juga sebagai bahan makanan, dalam industri farmasi dan sebagai bahan bakar (Hernawati, 2014). Pada umumnya pelarut yang sering digunakan adalah etanol karna eteanol telah banyak digunakan sebagai pelarut dibidang pangan dan obat-obatan dan cenderung lebih aman dibandingkan eter dan aseton (Mardaningsih et al, 2012).

#### 2.6.3. DMSO (Dimethyl-sulfoxide) [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO]

Menurut Handayani, et al., (2007), DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Selain itu DMSO sedikit memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehigga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar.

Gambar 4. Rumus Molekul DMSO(Google image, 2016)

Menurut Hastari (2012), faktor lain yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri adalah pelarut ekstrak. Salah satu zat yang sering digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah Dimethyl-sulfoxide (DMSO). Dimethyl-sulfoxide (DMSO) merupakan salah satu pelarut uji anti bakteri maupun uji antifungal suatu ekstrak atau obat baru. Penelitian ini menggunakan dimethyl-sulfoxide dengan konsentrasi 10%, karena pada konsentrasi ini DMSO diduga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Menurut penelitian Oktaviani (2011), DMSO yang berada didalam sel dapat mencegah prespitasi dari larutan seperti protein dan garam. Konsentrasi DMSO kurang dari 2% tidak efektif dalam mempreserpasi mikro alga, sedangkan apabila konsentrasi DMSO lebih dari 2% akan menyebabkan toksik bagi mikro alga. Konsentrasi DMSO yang terlalu tinggi dapat mendenaturasi enzim pada suhu ruang dan menyebabkan ketidakstabilan protein.

#### 2.7. Uji Cakram

Uji cakram pada penelitian antibakteri ini menggunakan metode difusi agar yaitu metode untuk mengetahui kekuatan antibakteri. Metode yang digunakan untuk penanaman bakteri yaitu teknik penggoresan agar yang lebih menguntungkan bila ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tetapi memerlukan keterampilan yang diperoleh dengan latihan. Penggoresan yang sempurna menghasilkan koloni yang terpisah. Bakteri yang memiliki flagela sering kali membentuk koloni yang menyebar terutama bila digunakan lempengan agar yang basah. Untuk mencegah hal ini harus

digunakan yang benar-benar kering. Beberapa bahan anti mikroba tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan anti mikroba bersifat menghambat apabila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Salah satu cara untuk menguji bahan antimikroba dapat dilakukan dengan uji cakram. Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan diatas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay,1994).

Lebar daerah hambatan ini tergantung pada konsentrasi obat yang digunakan. Cakram ini bisa untuk menggolongkan pengaruh obat antimikroba yaitu sensitif (S), resisten (R), *intermediate*(I). Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh ada pergeseran sedikit pun dan pengukuran diameter daerah penghambatan dalam milimeter (Bonang*et al.*, 1982). Ditambahakan menurut Lay (1994), adapun cara peletakkan kertas cakram dengan petridis minimal 15 mm dan jika jumlah cakram lebih dari satu, maka jarak antar cakram minimal 24 mm.

#### 2.8. Uji Dilusi (MIC/MBC)

Prinsip dari metode dilusi ini adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Tujuan dari metode dilusi ini ialah untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari obat antimikroba. Setelah itu masing-masing diuji dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dan obat terhadap bakteri uji (Kere, 2011).

#### 2.9. Uji GC-MS

Kromatografi merupakan metode pemisahan. GC-MS mempunyai kelebihan dalam pelaksanaan yang lebih sederhana jika dibandingkan dengan metode pemisahan klasik. Penggunan waktu yang singkat dan terutama mempunyai kepekaan serta kemampuan memisahkan serta kemampuan pemisahan yang tinggi. Prosedur kromatografi dapat digunakan jika metode klasik tidak dapat dilakukan karena jumlah cuplikan rendah, kompleksitas campuran yang hendak dipisahkan atau sifat kekerabatan yang hendak dipisah. Kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom dan kromato grafi gas dapat dilakukan dalam laboratorium dan sangat sesuai dengan identifikasi dan pemeriksaan kemurnian senyawa obat dan campuran senyawa obat.

Prosedur kromatografi tunggal dapat dibedakan menurut jenis pemisahan zat atau menurut materi pemisahan yang digunakan. Sering kali berbagai prinsip pemisahan dijadikan satu. Untuk karakterisasi hasil pemisahan dikenal dengan parameter pengenal (Roth*et al.*, 1998).

Kegunaan umum kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi gas dapat bersifat dekstruktif dan dapat bersifat non destruktif tergantung detektor yang digunakan (Gandjar et al, 2007).

#### 2.10. Fitokimia

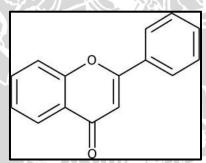
Senyawa fitokimia memberikan aroma khas, rasa dan warna tertentu bagi tanaman dalam berintegrasi dengan lingkunagan. Fitokimia mempunyai pengaruh biologis, mempunyai sifat menghambat pertumbuhan bakteri. Fitokimia yang telah diketahui adalah sekitar 30.000 jenis dan sebanyak 5.000 sampai 10.000 jenis terdapat dalam bahan pangan serta hampur 400.000 jenis tanaman mengandung fitokimia (Andriana, 2009).

Fitokimia yang merupakan hasil metabolit sekunder tumbuhan digolongkan menjadi alkaloid, antrakuinon, kumarin, minyak esensial (sebagai terpenoid dan fenilpropanoid), flavonoid, steroid dan terpenoid (Cannell, 1998). Kandungan kimia tumbuhan dapat digolongkan berdasarkan asal biosintesis, sifat pelarutan dan adanya gugus fungsi tersebut (Harborne, 2006).

#### 2.10.1. Flavonoid

Menurut Sastrohamidjojo (2001), senyawa flavonoid memberikan warna kuning atau jingga, antosianin memberikan warna merah, ungu atau biru, yaitu semua warna yang terdapat di pelangi kecuali warna hijau.

Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung C<sub>15</sub> terdiri dari 2 inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Cincin A memiliki karakteristik bentuk hidroksilasi phloroglusino atau resorsino dan cincin B biasanya 4,3,4 atau 3,4,5terhidroksilasi.



Gambar 5. Rumus Molekul Flavonoid(Google image, 2016)

Mekanisme kerjanya senyawa flavonoid diduga mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Flavonoid juga bersifat lipofilik yang akan merusak membran mikroba. Di dalam flavonoid mengandung senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein dan merusak membran sel. Kondisi asam oleh adanya fenol dapat berpengaruh terdapat pertumbuhan bakteri (Dwyana et al, 2012)

#### 2.10.2. Steroid

Rumus kimia steroid adalah  $C_{17}H_{19}N_5$  dan berat molekul sebesar 293,366 g/mol (Druglead, 2009).

Gambar 6. Rumus Molekul Steroid

Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi, yaitu: sitsterol, stigmasterol dan kampasterol. Steroid adalah triterpenoid yang mengandung inti siklopentana per hidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksan dan dari sebuah cincin siklopentana. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin dan asam empedu, tetapi pada tahun teakhir ini banyak steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan (Harborne, 1987).

#### 2.10.3. Terpenoid

Terpenoid memiliki berat molekul sebesar 464,6 g/mol (Cruz, 2007). Terpena adalah senyawa hidro karbon yang mempunyai struktur umum  $C_{10}H_{16}$ .

Gambar 7. Rumus Molekul Terpena

Terpena yang mengandung elemen lain biasanya oksigen disebut terpenoid. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan protein membran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga berakibat rusaknya protein transmembran. Rusaknya protein transmembran ini merupakan pintu keluar masuknya senyawa, akan mengurangi

permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi. Sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

#### 2.10.4. Alkaloid

Beberapa alkaloid memiliki kemampuan menghambat mikroba dan mekanismenya diduga dapat menyebabkan kerusakan DNA (Cowan, 1999). Alkaloid adalah senyawa organik yang memiliki cincin heterosiklik dengan atom nitrogen yang bersifat basa. Alkaloid memiliki struktur kimia  $C_{21}H_{20}N_2O_3$  dan memiliki berat molekul sebesar 411,41 g/mol (Druglead, 2009).

Gambar 8. Rumus Molekul Alkaloid

#### 2.10.5. Saponin

Rumus molekul saponin adalah  $C_{27}H_{42}O_3$  (Chemical, 2010). Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan memiliki karakteristik yang dapat membentuk buih sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama.

Gambar 9. Rumus Molekul Saponin

Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin dan iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butiran darah atau hemolisis pada

BRAWIJAYA

darah. Bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan (Hartono, 2009).

Menurut Robinson (1995), mekanisme saponin sebagai anti bakteri yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permaebilitas atau kebocoran sel dan senya intraseluler akan keluar.

#### 2.10.6. Tanin

Menurut Nangude (2007), rumus kimia tanin C<sub>76</sub>H<sub>52</sub>O<sub>46</sub> dan memiliki berat molekul yaitu 1700 g/mol. Tanin dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu tanin hidrolisis dan tanin kondusi yang mana keduanya memiliki daya antibakteri. Tanin hidrolisis merupakan tanin yang dapat dihidrolisis dengan asam, alkali atau enzim menjadi senyawa-senyaw yang lebih sederhan seperti gula dan asam tanat (asam galat dan asam elagenat). Galotanin adalah contoh tanin hidrolisis yang mana molekulnya tersusun dari asam galat dan gula. Sedangkan elagitanin merupakan tanin hidrolisis yang molekulnya tersusun dari asam elagat dan gula (Hagerman, 2002).

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

#### 2.11. Salmonella typhii

Menurut D'aoust (2001), taksonomi dari *salmonella sp* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phyllum : Proteobacteria

Class : Camma proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella Spesies : Salmonella sp

Gambar 10. Salmonella sp

Kontaminasi bakteri dalam pangan dapat menurunkan kualitas pangan dan mengakibatkan bahan pangan yang berasal dari hewan mudah rusak. Jika manusia mengkonsumsi bahan panganan tersebut dapat menimbulkan penyakit. *Salmonella spp* dapat menyebabkan salmonelosis, yang dapat menyerang hewan maupun manusia. Salmonelosis pada manusia terdiri dari tifoid dan non tifoid. Pencegahan masuknya infeksi *Salmonella spp* sangat penting dilakukan untuk menjaga kesehatan unggas dan industri makanan (Ikawikanti *et al*, 2014).

S. typhii merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang diameter 1-3,5 um x 0,5-0,8 um, bergerak dengan flagel peritrich mudah tumbuh pada pembenihan biasa dan tumbuh baik pada pembenihan yang mengandung empedu. Tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15-41°C dengan suhu pertumbuhan optimum 37,5°C dan ph pertumbuhan 6-8. Sebagian besar bersifat patogen pada binatang dan merupakan sumber infeksi bagi manusia. Bakteri ini pada suhu 56°C juga pada keadaan kering, dalam air biasa tahan selama 4 minggu. Hidup subur pada medium yang mengandung garam empedu, tahan terhadap zat warna hijau, senyawa tertanionat dan natrium deoksokholat. Dalam air susu dapat berkembang biak dan hidup lebih lama sehingg sering merupakan media untuk penularan penyakit. Pada manusia bakteri ini menimbulkan penyakit typhus abdominalis dengan masa inkubasi antar 7-14 hari. Bakteri ini masuk kedalam aliran darah dan berkembang biak dalam kantung empedu (Rostinaawati, 2009).

Menurut Kidgell*et al.*, (2002) *Salmonella typhii* menyebabkan tifoid pada manusia. Penyakit tifus, demam ditularkan melalui makanan dan air yang

BRAWIIAYA

terkontaminasi di negara berkembang. Pada skala global setidaknya 16-20 juta kasus demam tifoid terjadi setiap tahun, sehingga sekitar 600.000 terjadi kematin.



#### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Materi Penelitian

#### 3.1.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Sargassum echinocarpum*. *Sargassum echinocarpum* ini dicuci dengan menggunakan air laut. Kemudian dilakukan pencucian untuk membersihkan pasir dan sisa lumpur serta kotoran lainnya yang masih melekat.

Sargassum echinocarpum yang telah melalui proses pencucian dilakukan proses packingdengan cara memasukkan rumput laut kedalam kantong plastik warna hitam untuk menghindari kontak langsung dengan matahari.

Bahan yang digunakan untuk mengekstraksi anti bakteri rumput laut Sargassum echinocarpum yaitu pelarut metanol pro analisis dan etanol pro analisis serta alumunium foil sebagai penutup beaker glass pada saat maserasi agar pelarut tidak mudah menguap. Bahan lain yang digunakan adalah aquades yang diletakkan pada waterbath untuk proses pemekatan ekstrak kasar rumput laut (pemisah pelarut dan ekstrak) melalui vacum rotary evaporator.

Bahan yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri yaitu pelarut yang digunakan untuk pengenceran ekstrak *Sargassum echinocarpum*secara bertingkat agar diperoleh konsentrasi 500 ppm, 5.000 ppm, dan 10.000 ppm yakni dimetil sulfoksida (DMSO) konsentrasi 10%. Sedangkan untuk uji cakram, bahan yang digunakan antara lain kertas cakram (*paper disc*) masing-masing berdiameter 6 mm sebagai indikator zona bening ekstrak *Sargassum echinocarpum, cotton swab*, aquadest untuk pembuatan konsentrasi, alkohol 70% untuk sterilisasi lingkungan sekitar pada saat penanaman dan pengenceran, kertas label untuk melabeli, tissue untuk mebersihkan alat-alat yang digunakan serta biakan murni *salmonella typhii* sebagai bakteri uji. Media MHA merck (*Mueller Hinton Agar*) untuk pertumbuhan bakteri uji pada saat pengujian aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut. DMSO 10%

digunakan sebagai indikator pembanding daya antibakteri dengan ekstrak rumput laut. Pada uji fitokimia bahan yang digunakan adalah HCl, pereaksi *Mayer*, aquadest, larutan FeCl<sub>3</sub>1%, kloroform, alumunium foil, metanol *pro analisys*, etanol *pro analisys*, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, asam asetat anhidrat, kertas saring dan kertas label.

#### 3.1.2. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam maserasi adalah beaker glass 500ml, timbangan digital, corong. Peralatan yang digunakan dalam ekstraksi adalah corong, gelas ukur 100ml, spatula, rotary vacum evaporator Janke dan Kunkel RV 06-ML, timbangan digital, botol vial. Peralatan yang digunakan untuk uji cakram antara lain autoklaf, pipet, cawan petri, bunsen, triangel, inkubator dan korek api. Alat-alat yang digunakan untuk uji fitokimia adalah tabung reaksi, pipet tetes, pipet serologis, bola hisap, beaker glass 10ml, corong, rak tabung reaksi dan timbangan digtal. Untuk identifikasi kandungan senyawa aktif dalam ekstrak Sargassum echinocarpum digunakan GC-MS (Gas Cromatography-Mass Spectometry).

#### 3.2. Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Metode ini mengarahkan kepenelitian yang secara sengaja dilakukan oleh peneliti terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu adanya perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna diamati pengaruhnya. Pondasi yang dibangun pada penelitian ini merupakan riset-riset yangtelah terdahulu, studi kasus, literatur yang disebutkan serta data sekunder yang lainnya (Williams, 2007).

Penelitian ini menjadikan topik baru lebih dikenal oleh masyarakat luas, memberikan gambaran dasar mengenai topik bahasan, mengembangkan teori yang bersifat tentatif, membuka kemungkinan akan diadakannya penelitian lanjutan terhadap topik yang dibahas, serta menentukan teknik dan arah yang akan digunakan dalam penelitian berikutnya (Ida, 2004). Penelitian ini dilakukan dengan cara mengekstrak rumput laut coklat *Sargassum echinocarpum*dengan menggunakan dua pelarut yaitu etanol dan metanol. Setelah didapatkan ekstrak

r =

#### 3.2.1. Variabel Penelitian

Menurut Hartanto (2003), variabel adalah semua ciri atau faktor yang dapat menunjukkan variasi. Berdasarkan fungsinya ada tiga macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya atau faktor yang menjadi pokok permasalahan yang ingin diteliti. Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan dan dibuat sama antara kelompok yang diteliti. Variabel terikat yaitu variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas. Pada penelitian ini menggunakan:

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan pelarut yang berbeda yaitu etanol dan metanol serta variasi konsentrasi 500, 500, 10.000 ppm menggunakan DMSO 10% sebagai kontrol.
- b. Variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan anti bakteri pada kedua bakteri yaitu Salmonella typhii yang terlihat sebagai zona bening disekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

Pada penelitian ini menggunakan 4 kali ulangan dengan jumlah ulangan ditentukan dengan persamaan:

$$(t-1)(r-1) \ge 15$$

Dimana: t = Perlakuan

Ulangan

Sesuai dengan persamaan diatas ulangan dari perlakuan yang diinginkan dapat ditentukan. Banyaknya ulangan dapat dihitung sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \ge 15$$

$$(6-1)(r-1) \ge 15$$

$$6 (r-1) \ge 15$$

$$6r - 6 \ge 15$$

r ≥ 3 (penggunaan ulangan sebanyak 3 ulangan untuk meminimalisir kesalahan menggunakan 4 ulangan).

Metode pengujian data yang digunakan adalah sidik ragam (ANOVA) dimana jika terdapat pengaruh yang nyata atau sangat nyata maka akan dilanjutkan dengan uji *duncan's*. Model statistika yang digunakan dalam penelitian tahap pertama sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana:

Y<sub>ijk</sub> = Hasil pengamatan untuk faktor jenis pelarut taraf ke-I, faktor lama ekstraksi taraf ke-j, pada ulangan ke –k

μ = Rataan umum

A<sub>i</sub> = Pengaruh faktor jenis pelarut pada taraf ke-i

B<sub>i</sub> = Pengaruh faktor lama ekstraksi pada taraf ke-j

(AB)<sub>ij</sub> = Interaksi antara faktor jenis pelarut dan faktor lama ekstraksi pada faktor jenis pelarut taraf ke-I, faktor lama ekstraksi taraf ke-j

 $\epsilon_{ijk}$  = Galat percobaan untuk faktor jenis pelarut taraf ke-l, faktor ke faktor lama ekstraksi taraf ke-j pada ulangan ke-k

Tabel desaign rancangan data pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2 berikut

Tabel2. Rancangan data pengamatan

Konsentrasi(B)	Pelar	ut (A)
MIVERIO	Metanol	Etanol
	$(A_1)$	$(A_2)$
Kontrol (B <sub>1</sub> )	$(A_1B_1).1$	$(A_2B_1).1$
	$(A_1B_1).2$	$(A_2B_1).2$
	$(A_1B_1).3$	$(A_2B_1).3$
	$(A_1B_1).4$	$(A_2B_1).4$
500 ppm (B <sub>2</sub> )	$(A_1B_2).1$	$(A_2B_2).1$
	$(A_1B_2).2$	$(A_2B_2).2$
	$(A_1B_2).3$	$(A_2B_2).3$
	$(A_1B_2).4$	$(A_2B_2).4$
5000 ppm (B <sub>3</sub> )	$(A_1B_3).1$	$(A_2B_3).1$
	$(A_1B_3).2$	$(A_2B_3).2$
	$(A_1B_3).3$	$(A_2B_3).3$
	$(A_1B_3).4$	$(A_2B_3).4$
10000 ppm (B <sub>4</sub> )	$(A_1 B_4).1$	$(A_2B_4).1$
	$(A_1B_4).2$	$(A_2B_4).2$
	$(A_1B_4).3$	$(A_2B_4).3$
	(A₁B₄).4	$(A_2B_4).4$

#### 3.2.2. Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan adalah dengan parameter kuantitatif berdasarkan luas zona hambat yang dihasilkan. Untuk mengetahui perbandingan dengan kontrol zona hambat dari masing-masing konsentrasi yang berbeda, bertujuan untuk mengetahui hambat terbaik yang dihasilkan dari konsentrasi berbeda. Menurut Windarwati (2011), diameter penghambatan adalah selisih antara diameter areal bening yang terbentuk dengan diameter sumur. Hasil zona bening yang terbentuk menurut Greenwood (1995), dapat diklasifikasikan sesuai Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi Respon Hambatan		
Daya hambat antibakteri	Kategori daya hambat antibakteri	
≥ 20 mm	Sangat kuat	
10-20 mm	Kuat	
5-10 mm	Sedang	
≤ 5 mm	Lemah	

#### 3.2.3. Analisi Data

Berdasarkan variabel bebas atau perlakuan, penelitian ini dirancang dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor yaitu adanya 2 pelarut

BRAWIJAYA

etanol dan metanol serta konsentrasi ekstrak kasar *Sargassum echinocarpum* 500 ppm, 5.000 ppm dan 10.000 ppm.

Pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dapat diketahui dengan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1% dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata, maka dilakukan uji DMRT pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan mana yang terbaik.

### 3.3. Prosedur Penelitian

## 3.3.1. Persiapan Bahan

Rumput laut yang digunakan adalah *Sargassum echinocarpum* sebanyak 5 kg. Sampel yang sudah dapat dijemur menggunakan alas koran dan dikeringkan dibawah sinar matahari . Proses penjemuran ini dilakukan selama 2-3 hari dengan tujuan untuk menghilangkan kadar air pada *Sargassum echinocarpum*. Rumput yang kering kemudian dihaluskan dengan alat penggiling dengan tujuan untuk mendapatkan tepung dari rumput laut *Sargassum echinocarpum*. Setelah dihaluskan sempel ditimbang untuk mendapatkan rendemen.

Rendemen adalah berat akhir setelah perlakuan. Perhitungan rendemen sebanyak 2 kali yaitu pada proses pengeringan sempel dan hasil ekstraksi. Pada pengeringan sampel, perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar air yang keluar (menguap) akibat proses pemanasan. Rumus perhitungan rendemen bahan dan rendemen ekstraksi adalah:

$$Rendemen\ bahan = \frac{beratakhir\ (setelahperlakuan)}{beratawal\ (belumperlakuan)}x\ 100\%$$

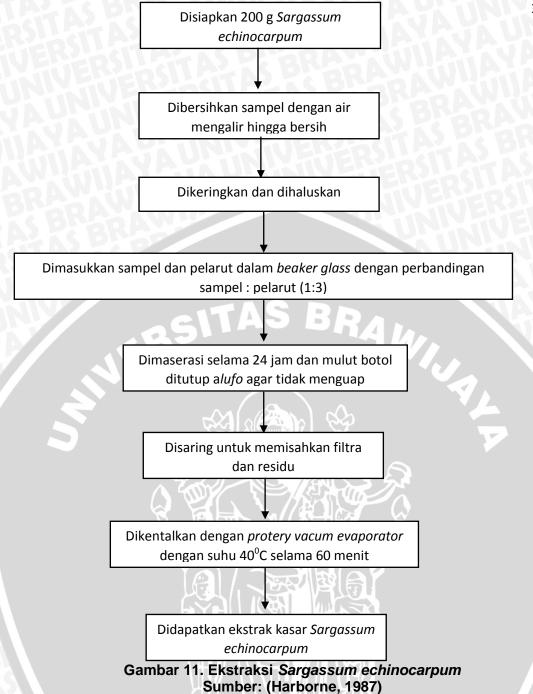
### 3.3.2. Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah menggunakan metode Harborne (1987), yaitu dengan cara maserasi. Maserasi menggunakan pelarut metanol pro analisis dan etanol pro analisis dengan perbandingan 1:3 (b/v) (100 gram : 400 ml).

Karena dengan menggunakan timbangan digital, 300 gram sama dengan sebanyak 400 ml, selama 1 x 24 jam dengan ditutup menggunakan alumunium foil di mulut botol agar tidak menguap. Maserasi dilakukan pada suhu ruang di dalam ruangan. Sargassum echinocarpum kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung dalam erlenmayer sehingga diperoleh filtrat ekstrak metanol dan etanol.

Ekstrak etanol dan ekstrak metanol yang terkumpul kemudian di evaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40-45°C sampai tidak terjadi lagi pengembangan pelarut pada kondensor (menunjukan semua pelarut telah menguap). Kemudian didapatkan ekstrak kasar. Setelah itu ditimbang menggunakan timbangan digital sehingga didapatkan berat akhir.

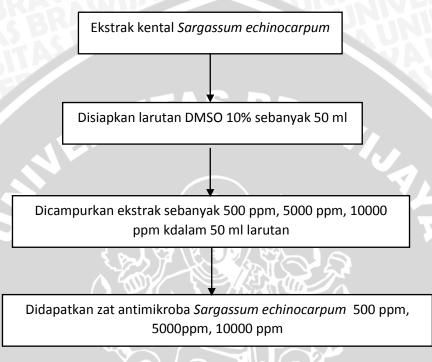
Kemudian ekstrak dilarutkan dalam pelarut DMSO 10 % dengan konsentrasi 500 ppm, 5.000 ppm dan 10.000 ppm. Selanjutnya dimasukkan pada botol vial sehingga didapatkan ekstrak dari Sargassum echinocarpum.



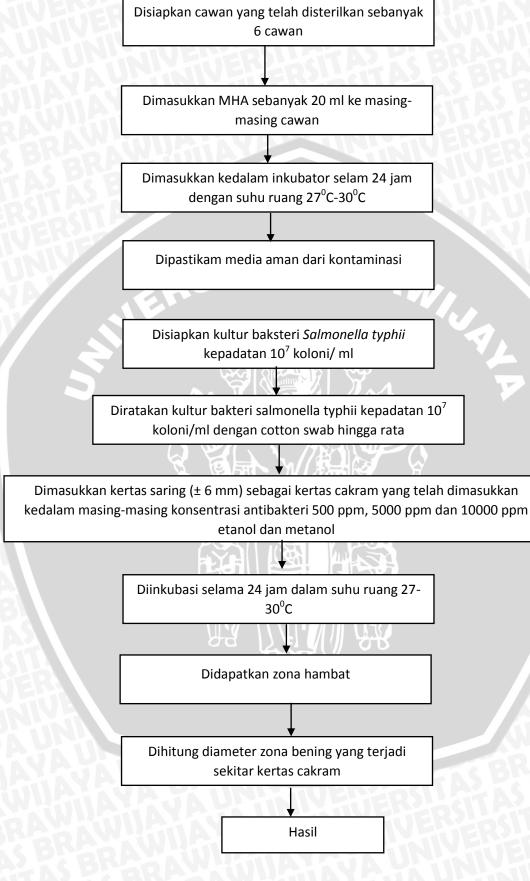
## 3.3.3.Uji Cakram

Metode yang digunakan pada uji cakram menggunakan metode difusi agar untuk mengetahui kekuatan anti bakteri. Kertas ckaram direndam dalam zat anti mikroba dari ekstrak dalam berbagai konsentrasi 500 ppm, 5.000 ppm dan 10.000 ppm selama kurang lebih 15 – 30 menit. Kemudian kertas cakram telah direndam pada zat anti mikroba ditempelkan pada lempeng MHA. Kemudian di inkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam. Diamati dan diukur zona hambat yang terdapat pada masing – masing cakram. Pengukuran zona penghambatan diukur dengan

mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar kertas ckaram di sekitar kertas cakram dengan jangka sorong. Penghambatan pertumbuhan bakteri penguji oleh ekstrak sample yang memiliki kandungan anti bakteri terlihat zona bening yang tidak ditumbuhi oleh bakteri penguji.



Gambar 12. Pelarutan DMSO 500, 5000, 10000 ppm **Sumber: (Lay, 1994)** 



Gambar 13. Uji Cakram Sumber: (Lay, 1994)

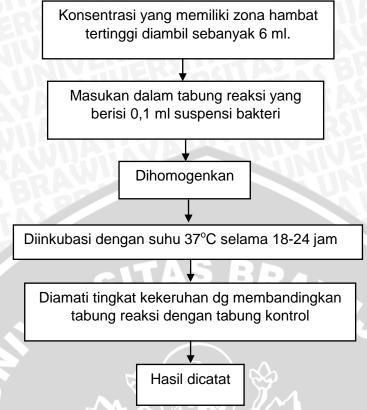
## 3.3.4.Uji Dilusi (MIC/MBC)

Prinsip dari metode ini ialah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi mediacair dan sejumlah tertentu selmikroba yang diuji. Uji MIC MBC ini mengacu pada Jurnal kelautan (2010). Pertama membuat dosis stok konsentrasi 10000 ppm dari ekstrak metanol Sargassum echinocarpum selanjutnya dilakukan pengenceran bertahap.

Tabel4 Pengenceran konsentrasi ekstrak 10000 npm dalam akuades

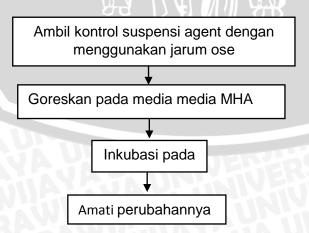
Konsentrasi (100%)	Akuades (ml)	Konsentrasi 10000 ppm (ml)
100	0	1
75	0,25	0,75
50	0,50	0,50
25	0,75	0,25
0	$\sim$ $\sim$ 1 $\sim$	0

Siapkan tabung reaksi steril sebanyak 5 tabung. Pengenceran berseri dilakukan dengan pemindahan sebanyak 6 ml larutan dari tabung pertama hingga tabung terakhir sehingga dihasilkan konsentrasi sebagai berikut : 100%, 75%, 50%, 25%,0%. Selanjutnyaditeteskan inokulum bakteri sebanyak 10 µ kedalam tabung dengan konsentrasi 75%, 50% dan 25%. Untuk tabung konsentrasi 100% sebagai kontrol negatif dan 0% sebagai kontrolpositif. Kemudian semua tabung reaksi tersebut diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 35°C. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan keseluruhan tabung kekeruhan media dengan dengan melihat kontrol positf dan negatif. Untuk uji MIC ini diambil konsentrasi yang mendekati kontrol positif dan standar Mc. Farland (10<sup>8</sup> sel/ml) sebagai konsentrasi minimum.



Gambar 14. Uji MIC Metode Dilusi (jurnal kelautan, 2010)

Selanjutnya masing-masing campuran ditanam sebanyak 0,1 ml dalam media agar. Pembacaan hasil dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Jika tumbuh bakteri berarti bahwa konsentrasi tersebut bersifat bakteriostatik. Akan tetapi jika bakteri tidak tumbuh berarti bahwa dosis obat tersebut bersifat bakteriosidal.



Gambar 15. MBC Metode Penanaman Tuang (Jurnal kelautan, 2010)

## 3.3.5.Uji GC-MS

Hites (1985) menjelaskan bahwa, GC-MS digunakan untuk mengidentifikasi dan kuantifikasi bahan organic volatile dan semi volatile dalam campuran, menentukan berat molekul dan kadang komposisi elemen dari bahan organik yang tidak diketahui dari campuran, dan menentukan struktur dari bahan organic dari campuran dengan cara mencocokan spectrum bahan dengan catalog dan dengan cara interpretasi spectrum.

Spektrum merupakan teknik analisa yang mengukur rasio massa dan muatan dari partikel. Analisa ini digunakan untuk menentukan berat partikel, untuk menemukan komposisi elemen dari sempel atau molekul dan untuk menerangkan struktur kimia dari molekul seprtipeptide atau bahan kimia lain. Prinsip spectrum massa yaitu mengionisasi bahan kimia untuk menghasilkan muatan molekul atau pecahan molekul dan mengukur rasio massa dan muatan partikel tersebut (Anonymous, 2009).

## 3.3.6. Uji Fitokimia

Analisis fitokimia identifikasi yang dilakukan adalaha uji flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid menggunakan metode didasarkan Harborne (1987).

### Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram *Sargassum* echinocarpum dihaluskan, kemudian ditambahkan 15 ml etanol. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 50°C selama 5 menit. Setelah itu disaring dan ditambahkan 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Kemudian reaksi positif ditandai dengan warna hijau kebiruan.

### Uji Tanin

Sebanyak 5 gram *Sargassum echinocarpum*dihaluskan, lalu ditambahkan 50 ml aquadest. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 100°C selama 10 menit. Kemudian didinginkan dan disaring, lalu filtranya ditambahkan FeCl<sub>3</sub>. Reaksi positif ditandai dengan warna hitam kehijauan.

## Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram *Sargassum echinocarpum* dihaluskan lalu ditambahkan 1 ml HCl 2N. Kemudian ditambahkan aquadest 9 ml, setelah itu dipanaskan dalam waterbath dalam suhu 100°C selama 2 menit. Lalu disaring, kemudian diambil 3 tetes filtrat. Dalam uji alkaloid, menggunakan 3 pereaksi. Yang pertama ditambahkan 3 tetes peraksi *Wagner*, reaksi positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat. Yang kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi *Mayer*, reaksi positif ditunjuikan dengan aadanya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Yang ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi *Dragendorf*, reaksi positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna merah atau jingga.

## Uji Saponin

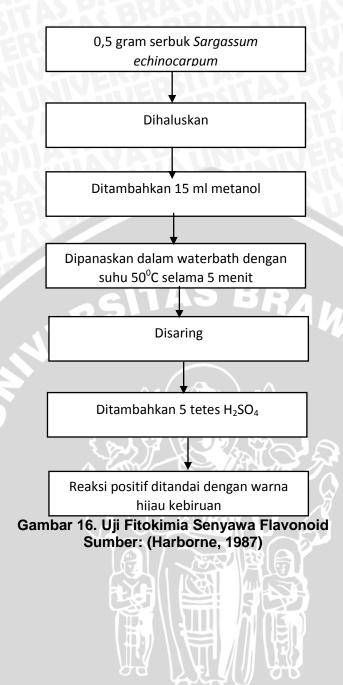
Sebanyak 0,5 gram *Sargassum echinocarpum* dihaluskan, lalu ditambahkan 20 ml aqudest. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 80°C selama 5 menit. Kemudian didinginkan dan disaring,filtratnya dikocok selama 10 menit reaksi positif ditandai dengan terbentuknya busa.

### **Uji Steroid**

Ekstrak *Sargassum echinocarpum* sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan asam anhidrat 2 ml. Lalu ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 2 ml, setelah itu reaksi positif adanya steroid ditunjukkan adanya perubahan warna dari violet ke warna biru atau hijau.

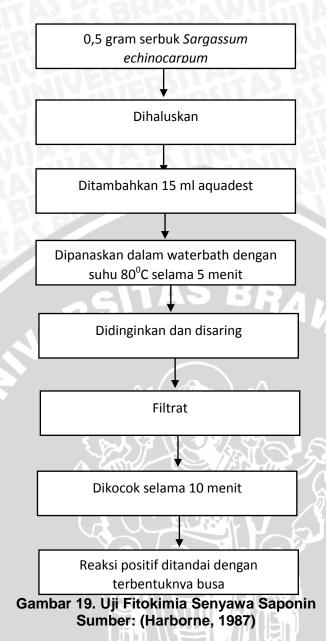
## Uji Terpenoid

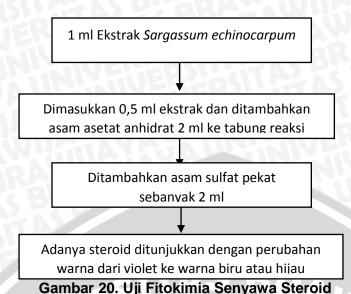
Ekstrak *Sargassum echinocarpum* dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 ml dan ditambahkan 2 ml kloroform. Setelah itu ditambahkan asam sulfat pekat secara perlahan sebanyak 3 ml. Kemudian jika terbentuk warna merah kecoklatan maka terdapat senyawa terpenoid.

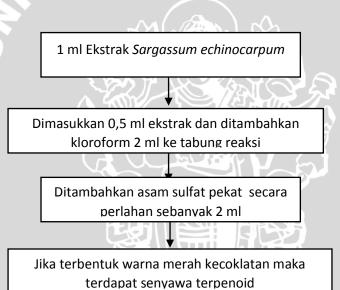




Gambar 18. Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid Sumber: (Harborne, 1987)



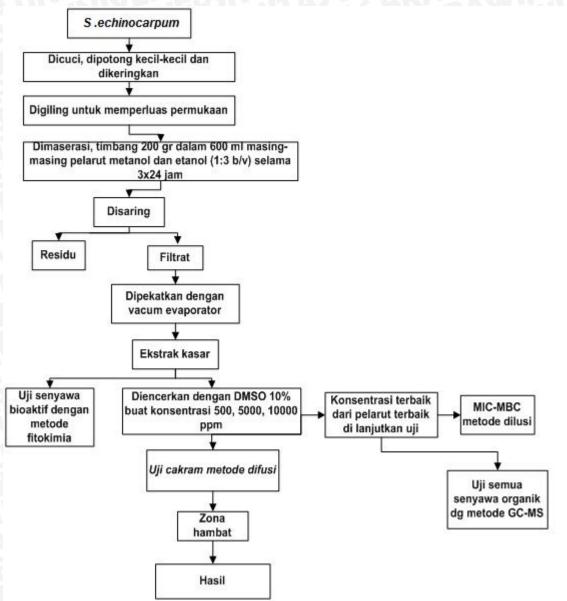




Gambar 21. Uji Fitokimia Senyawa Terpenoid Sumber: (Harborne, 1987)

Sumber: (Harborne, 1987)

## 3.4. Skema Kerja Penelitian

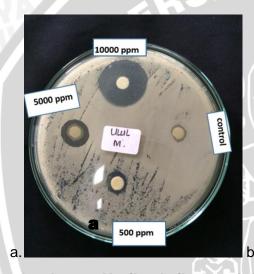


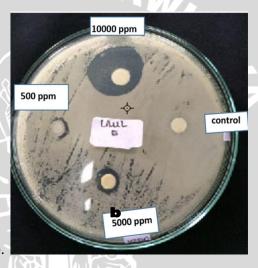
Gambar 22. Skema Kerja Penelitian

### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Uji Cakram

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen untuk mengetahui pelarut terbaik antara metanol dan etanol menggunakan ekstrak Sargassum echinocarpumdengan menggunakan konsentrasi yang berbeda untuk menghambat bakteri Salmonella typhi. Setelah dilakukan dengan menggunakan cara pengujian cakram dengan melihat zona bening yang dihasilkan, dan hasil yang terbaik dari masing-masing pelarut adalah sebagai berikut.

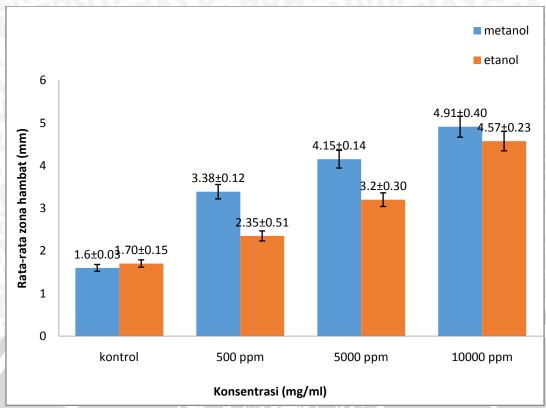




Gambar 23. Hasil terbaik ekstrak Sargassum echinocarpum dengan pelarut metanol dan etanol terhadap salmonella typhi

a. hasil terbaik dengan pelarut metanol b. hasil terbaik dengan pelarut etanol

Berikut ini adalah hasil grafik uji antibakteri dengan metode difusi agar atau uji cakram, grafik menggunakan hasil rata-rata dari 4 ulangan pada masing-masing pelarut dan konsentrasi.



Gambar 24. Rata-rata zona hambat terhadap bakteri Salmonella typhii

Dari hasil uji cakram didapatkan hasil grafik yang menunjukkan bahwa 10.000 ppm adalah memiliki hasil tertinggi dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*. Dengan menggunakan kontrol DMSO 10% tanpa menggunakan ekstrak sudah memberikan efek dengan bukti timbulnya zona bening disekitar cakram. Dan 500 ppm sudah dapat memberikan zona bening pada cakram uji atau disekitar kertas, hal ini dapat dilihat dari hasil grafik diatas.

Dari data yang didapatkan, didapatkan jumlah rata-rata dari setiap perlakuan mulai dari kontrol DMSO 10% tanpa ekstrak hingga menggunakan konsentrasi 10.000 ppm. Kontrol DMSO 10% didapatkan rata-rata 1,7 mm pada etanol dan 1,6 mm pada kontrol metanol. Konsentrasi 500 ppm dengan pelarut etanol memiliki rata-rata zona hambat sebesar 2,35 mm dan dengan pelarut methanol memiliki zona hambat sebesar 3,38 mm. Konsentrasi 5000 ppm dengan pelarut etanol didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 3,2 mm dan dengan pelarut methanol didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 4,15 mm. Konsentrasi 10.000 ppm dengan menggunakan pelarut etanol didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 4,5 mm dan

dengan pelarut methanol didaptkan rata-rata zonahambat sebesar 4,91 mm. Penelitian sebelumnya oleh Hadiwiyoto (2010), Hasil peneilitian menunjukkan, ekstrak *K.alvarezii* dan *E. denticullatum* dengan pelarut metanol, lebih efektif dibandingkan ekstrak dengan pelarut etanol. Hal ini mengindikasikan komponen senyawa bioaktif yang terdapat dalam *K. alvarezii* dan *E. Denticullatum* tersebut, lebih mudah larut dalam metanol.

Dari rata-rata hasil diatas menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum* echinocarpum memiliki kekuatan sebagai antibakteri. Jika dibandingkan oleh Greenwood (1995), pada ekstrak methanol *Sargassum echinocarpum* konsentrasi dapat dikategorikan daya hambatnya lemah karena berikasar pada <5 mm. Konsentrasi 500 ppm sudah dapat menghasilkan kekuatan antibakteri dan tidak meningkat signifikan walaupun dinaikkan hingga konsentrasi 10.000 ppm.

## 4.2. Uji Fitokimia

Pada penelitian ini uji fitokimia yang digunakan adalah flavonoid, terpenoid, alkaloid, saponin steroid, dan tannin. Berikut adalah hasil pengujian fitokimia terhadap *Sargassum echinocarpum*, ditunjukkan pada **Tabel4**.

Tabel 5. Uji Fitokimia Ekstrak Alga Coklat Sargasssum echinocarpum

GolonganSenyawaAktif	Hasil uji	Keterangan
1. Alkaloid		(-)
2. Flavonoid	\\\ <del>\</del> _\' <i>\</i>	(+) terbentuk warna hijau kebiruan
3. Saponin	12.74	(-)
4. Tanin	U+ U	(+) hijau kehitaman atau birutua
5. Terpenoid	+	(+) merah/kecoklatan
6. Steroid	+	(+) terbentuk warna hijau atau biru

Sumber: Data Penelitian (2016).

Dari tabel menunjukkan hasil uji fitokimia dari *Sargassum echinocarpum* terdapat senyawa flavonoid, terpenoid, tannin dan steroid.

### 4.2.1. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang berperan sebagai faktor pertahanan alam, seperti mencegah serangan bakteri, yang ditemukan pada sebagian besar

tumbuhan. Flavonoid juga berfungsi sebagai antimikroba, dan diduga dapat bersifat toksik pada kadar tertentu (Putri *et al.*, 2012). Pada hasil uji ftokimia ekstrak alga coklat *Sargassum echinocarpum* positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi yaitu berwarna hijau kebiruan. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.*, 2009).

## 4.2.2. Terpenoid

Mekanisme terpenoid sebagai senyawa antibakteri yaitu bereaksi dengan protein membran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga berakibat rusaknya protein transmembran. Rusaknya protein transmembran ini merupakan pintu keluar masuknya senyawa, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi. Sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

### 4.2.3. Tanin

Tanin terkandung pada ekstrak *Sargassum echinocarpum* yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada saat uji. Hal ini sesuai dengan Sastry dan Rao, (1994), yang menyatakan bahwa *Sargassum sp.* memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare (Sastry dan Rao, 1994). Tanin mempunyai sifat sebagai bakteristatik, fungistatik, dan merupakan racun. Ekstrak yang ditambahkan FeCl<sub>3</sub> dan terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan adanya seyawa tanin (Ismarani, 2012).

### 4.2.4. Steroid

Senyawa steroid dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian steroid didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut membentuk warna. Hasil yang diperoleh menunjukkan positif terbentuknya warna biru atau hijau untuk senyawa

steroid (Yunianto et al., 2014). Pada pengujian steroid ditambahkan asam sulfat, Tujuan penambahan asam sulfat ini bertujuan untuk memutuskan ikatan gula pada senyawa. Jika ikatan gula terlepas maka adanya steroid bebas pada sampel akan ditandai dengan adanya cincin berwarna kecoklatan (Purba, 2007). Senyawa steroid terkdandung dalam hasil ekstrak Sargassum echinocarpum, karena terbentuk warna biru. Menurut Morin dan Gorman (1995), senyawa steroid memiliki struktur lipofilik yaitu senyawa yang larut dalam lemak. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel mikroba yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel mikroba rapuh dan lisis. Akibat lisis dari membran sel, senyawa yang terdapat dalam sitoplasma (seperti: inti sel, mesosom, protein dan lain-lain) akan keluar sehingga mengakibatkan kematian bakteri.

#### 4.3. Uji MIC dan MBC

Uji MIC dan MBC merupakan metode yang digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM/MIC) dan kadar bunuh minimum (KBM/MBC). Uji ini menggunakan metode dilusi dengan sampel ekstrak kasar Sargassum echinocarpum dengan pelarut metanol. Dari uji tersebut memperoleh hasil seperti pada Tabel5.

Tabel 6. Uii MIC dan MBC

I abci	0. 0ji <i>iiii</i> 0 a			
155	No.	Konsentrasi	Hasil Pengamatar	า
		(b/v)	DilusiCair	Sub Kultur
				media MHA
	1	100%	-	-
	2	75%	+	115
	3	50%	+	131
	4	25%	+	212

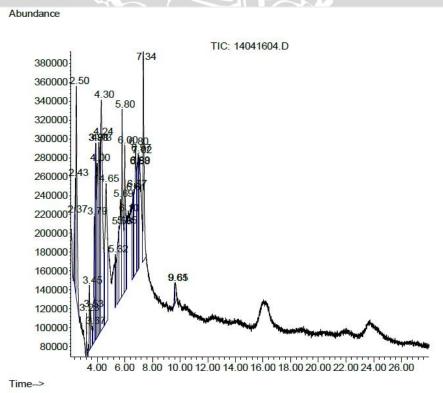
(-) Tidak Keruh, dibandingkan dengan standart mcfarland 10<sup>-8</sup> Ket: (+)Keruh, dibandingkan dengan standart mcfarland 10<sup>-8</sup>

Dari hasil uji MIC diperoleh kadar minimum ekstrak kasar rumput laut Sargassum echinocarpum dengan menggunakan metanol konsentrasi 10000 ppm sebesar 75% dengan jumlah bakteri 115 cfu/ml. Menurut Benson (1990), antibakteri dikategorikan sebagai bakteriostatik jika pada konsentrasi tersebut bakteri tidak

mengalami kematian, namun juga tidak tumbuh. Antibakteri dikategorikan sebagai bakteriosidal jika pada konsentrasi tersebut bakteri mengalami kematian. Edberg (1983), menjelaskan bahwa senyawa antibakteri bekerja dengan cara berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan juga berdifusi ke dalam sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat (bakteriostatik) dan atau mati (bakteriosidal). Selain itu, senyawa antibakteri juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi.

### 4.4 Identifikasi Senyawa Aktif (GC-MS)

Identifikasi untuk menentukan profil senyawa antibakteri dalam ekstrak Sargassum echinocarpum dengan pelarut methanol dilakukan dengan menggunakanuji GC-MS. Adapun hasil dari GC-MS adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu senyawa. Senyawa yang teridentifikasi dari ekstrak Sargassum echinocarpum dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar24.Spektra Gas Kromatografi Ekstrak Sargassum echinocarpum

Setelah mengetahui hasil identifikasi GC-MS dari ekstrak Sargassum echinocarpum dengan menggunakan pelarut metanol, ada tiga puluh dua senyawa yang terbaca pada identifikasi senyawa aktif. Dengan melihat titik-titik tertinggi yang muncul dalam hasil identifikasi di atas, diambil dua senyawa dengan puncak-puncak tertinggi dari hasil identifikasi. Titik-titik tertinggi yang muncul dapat mewakili senyawa-senyawa aktif yang berada dalam ekstrak Sargassum echinocarpum dalam menghambat bakteri. Tabel dibawah ini terdapat senyawa-senyawa yang memiliki titik puncak tertinggi dalam hasil identifikasi senyawa aktif dengan keterangan waktu retensi, persentase area, dan urutan puncak ke.

Tabel 7. Dua Senyawa tertinggi Hasil Analisis GC-MS Ekstrak Sargassum echinocarpum

JenisSenyawa	Wakturet ensi	Persentase area (kelimpahan)	Puncak ke
Hexadecanoic acid	7, 34	5, 45	30
Benzofuran	6, 01	3, 87	21

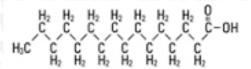
Sumber: Hasil pengujian ekstrak Sargassum echinocarpum pelarut metanol

Jika diurutkan dari urutan puncak tertinggi adalah hexadecanoic acid dalam bahasa Indonesianya disebut asam heksadekanoat dan Benzofuran.

### 4.4.1. Hexadecanoid acid

Asam heksadekanoat adalah asam lemak jenuh rantai panjang dengan rumus molekul CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>COOH. Asam palmitat terdapat dalam bentuk trigliserida pada minyak nabati seperti minyak kelapa, minyak kelapa sawit, minyak inti sawit, minyak avokat, minyak biji kapas, minyak kacang kedelai, minyak bunga matahari dan lain-lain. Minyak tersebut merupakan ester gliserol palmitat maupun ester gliserol lainnya yang apabila disabunkan dengan suatu basa kuat, kemudian ditambahkan dengan suatu asam akan menghasilkan gliserol, asam palmitat disamping asam lemak lainnya (Brahmana, 1998) .Asam palmitat termasuk asam lemak yang memiliki sifat anti fungi dengan merusak struktur dinding sel dan membran sel dengan

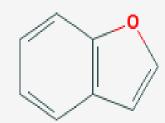
mekanisme secara sinergis dengan berbagai senyawa aktif seperti terpenoid, sehingga dapay meningkatkan pengaruh aktivitas antifungi (Warsinah *et al.*,2011).



Gambar 25. Struktur Asam Heksadekanoat (H<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) (Google\_image, 2015)

### 4.4.2. Benzofuran

Benzofuran merupakan senyawa heterosiklik yang terdiri dari cincin benzena dan furan yang berlebur. Struktur benzofuran merupakan induk dari senyawasenyawa terkait yang berstruktur lebih kompleks. Sebagai contoh, psoralen merupakan turunan benzofuran yang terdapat pada beberapa tumbuhan (Yenni etal., 2015). Adapun senyawa fenol yang teridentifikasi meliputi benzofuran, phenol, benzaldehyde, benzeneethanol dan Naphthalenol.Benzofuran disini berfungsi untuk menghambat sintesis lemak (Sri, 2011).



Gambar 26. Benzofuran (Googleimage, 2016)

## 5.1. Kesimpulan

Hasil yang didapat dari penelitian antibakteri menggunakan ekstrak *Sargassum* echinocarpum dengan menggunakan pelarut metanol dan etanol didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

- Zonahambat tertinggi pada ekstrak kasar Sargassumechinocarpum yang diekstrak dengan pelarut methanol dengan konsentrasi pengenceran DMSO sebesar 10000 ppm sebesar 4,91 mm. Sedangkan zona hambat terendah ekstrak kasar Sargassumechinocarpum yang diekstrak dengan pelarut etanol dengan konsentrasi pengenceran DMSO sebesar 500 ppm sebesar 2,35 mm.
- Kadar hambat minimum pada ekstrak kasar Sargassum echinocarpum yang diekstrak dengan pelarut metanol dengan konsentrasi pengenceran DMSO sebesar 10000 ppm padakonsentrasi 75% dengan jumlah bakteri 115 cfu/ml.
- Senyawa aktif pada uji fitokimia yang terdapat pada ekstrak kasar Sargassum
  echinocarpum ialah Flavonoid, terpenoid, Steroid, dan Tanin dan Identifikasi
  senyawa pada uji GCMS yang terdapat pada ekstrak kasar Sargassum
  echinocarpum ialah Benzofuran dan Hexadecanoic acid.

### 5.2. Saran

Setelah saya melaksanakan penelitian saran saya untuk melakukan penelitian tentang antibakteri yang lebih mendalam dengan menggunakan Sargassum echinocarpum basah dan ekstrak Sargassum echinocarpum yang lebih dahulu dimurnikan dengan FTIR atau Kromatografi kolom.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Agustin, Ni Wayan dan Kusmiati. 2006. **Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga Porphyridium cruentum**. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Cibinong Vol: 8 (1).
- Andriana, Rissa. 2009. Identifikasi Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Terung Pucuk (Salanum macrocerpon L). Program Studi Teknologi Hasil Pertanian. Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sriwijaya.
- Annonymous. 2014. http://www.ipterk.net.id/ind/pdalga/index.php?alga=coklat&id. Diakses 15 september 2014.
- Arifuddin, Patong, R., dan Ahmad, A. 2001. Penelusuran Protein Bioaktif dalam Makro Alga sebagai Bahan Antibakteri dan Antijamur. Marina Chimica Acta, 2 (2).11-18.
- Atmadja, W.S., Kadi, A., SulistijodanSatari, R. 1996. **Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia**. PuslitbangOseanologi LIPI. Jakarta
- Benson, H.J. 1990. Microbiological Aplications. A Laboratory Manual in General Microbiology. Wm. C. Brown Publishers. USA. 367 p
- Bonang, G. Dan E. S. Koeswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik. Gramedia: Jakarta
- Cannell, Richard J.P. (1998). Natural Products Isolation Methods in Biotechnology; 4. Totowa: Humana Press
- Chemical. 2010. **Saponin**. http://www.chemical book.com/Chemical Productproperti EN CB 9393639. Htm. Diakses tanggal 23 februari 2015
- Cowan, M. 1999. Plants **Product as Antimicrobial Agent. Clinical Microbiology** Reviews, 12 (4).
- Cruz, S. 2007. **Pristimerin: sc-281138.** <a href="http://www.scbt/datasheet-281138-2016">http://www.scbt/datasheet-281138-2016</a>
- D'aoust, J. V. 2001. Salmonella. New York: Ajohn Wiler & Sons, Inc., Publication.
- Darwis, D. 2000. Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. FMIPA Universitas Andalas Padang.
- Druglead. 2009. **Serpentine (Alkaloid**). <a href="http://www.druglead.com/cds/serpentine-alkaloid.html">http://www.druglead.com/cds/serpentine-alkaloid.html</a>. diakses tanggal 25 Februari 2016.
- Dwyana Z, Johannes E. 2012. **Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Alga Merah Eucheuma Cottonii Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Patogen**[online]. Available at

- http://222.124.222.229/bitstream/handle//ARTIKEL%20PUBLIKASI.pdf [diakses 3 Januari 2016]
- Edberg, S.C. 1983. Tes **Kerentanan Antimikroba dalam Antibiotika dan Infeksi**. Alih bahasa: Chandra sanusi. CV. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 219 hal.
- Eri. 2007. Manfaat Rumput Laut, cegah kanker dan Antioksidan. Gizi Kuliner Indonesia.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Firdaus, M., Made, A., Deddy, M., Tutik, W., Sarwono, W., Setyaswati, S.K. 2012. Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Rumput Laut Cokelat Sargassum echinocarpum. JPHPI 2012, Vol. 15 No. 5
- Ganjar, I.G., dan Rohman A. 2007. **Kimia Farmasi Analisis**. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Greenwood. 1995. Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test, Antimicrobial and Chemoteraphy. Mc Graw HillCompany, USA.
- Guenther, E. 1987. **Minyak Atsiri Jilid I, Penerjemah Ketaren S.**, Cetakan I, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Hagerman, A. E. 2002. **Tannin Chemistry**. <a href="http://www.sers.mauohio.edu">http://www.sers.mauohio.edu</a>. Diakses tanggal 22 februari 2015.
- Handayani, D, Deapati, M, Marlina dan Meilan 2007. **Skrining Aktivitas Anti Bakteri Beberapa Biota Laut Dari Perairan Pantai Painan Sumatra Barat**.

  http://farmasi .unand.ac.id
- Harborne, J.B. (2006). **Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro)**.
  Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Edisi Ke-2 ITB: Bandung
- Hartono, T. 2009. Bahan Alam Fitokimia Saponin. Farmasi. DIKTI. Net. http://farmasi.dikti.net.\saponin. Diakses tanggal 23 Februari 2015
- Hastari, R. 2012. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Pelepah dan Batang Tanaman Pisang Abon (Musa paradisiaca var saplentum) terhadap Staphylococus aureus. Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Undip. Semarang
- Hernawati.2014. **Gambaran Efek Toksik Etanol Pada Sel Hato**. Jurusan Pendidikan Biologi. FMIPA UPI: Bandung.
- Hikmah, N. Dan Zuliyana. 2007. **Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) Dari Minyak Dedak dan 57 Etanol Dengan Proses Esterifikasi dan Transesterifikasi**. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Diponogoro. Semarang

- Hikmah, N. Dan Zuliyana. 2010. **Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) Dari Minyak Dedak dan Metanol Dengan Proses Esterifikasi dan Transesterifikasi**. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Diponogoro. Semarang
- Ikawikanti, Arweniuma., Padiga., M.C., Oktaianie, D. A. 2014. Isolasi dan Karakteristik Salmonella spp. Pada lingkungan peternakan Ayam Boiler di Kota Malang. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Program Kedokteran Hewan. UB: Malang
- Ismarani. 2012. **Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan**. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*. **3**(2): halaman
  1.
- Kadi. 2008. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum Di Perairan Indonesia**. www.rumputlaut.org.
- Kere, M. 2011. Daya antibakteri ekstrak etanol buah mahkota dewa (Phaleria Macrocarpa [Scheff.] Boerl.) terhadap Fusobacterium nucleatum sebagai bahan medikamen saluran akar secara in vitro. Skripsi, Universitas Sumatera Utara, Medan
- Kidgell, C., Reichard, U., Wain, J., Linz, B., Torpdahl, M., Dougan, G., Achtman, M. 2002. Salmonella typhi, the Causative Agent of Typhoid Fever, is Approximatelyt 50.000 Years Old. Centre for Molecilar Mivrobiology and Infection, Imperial College of Science, Technology and Medicine, The Flowers Building Exhibition Road, South Kensingtpm, London SW7 2Ay, UK. Departemen of Molecular Biology, Max-Planck Institut for Infektionbiologie, schumanntrasse 21/22, 10117 Berlin, Germany. Denmark. Infection, Genetics and Evalution 2 (2002).
- Kurniawan, A.P. 2010. **Pembuatan Etanol dari Sampah Pasar Melalui Proses Hidrolisis Asam dan Fermentasi Bakteri Zymomonas mobilis**. Jurnal Teknik Lingkungan FTSP-ITS. Surabaya.
- Lailatul, L.K., A. Kadarohman dan R. Eko. 2010. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (Vetiveria zizanoides) Terhadap Larva Nyamuk Aedes aegypti, Culex sp., dan Anopheles sundaicus. Jurnal Sains dan Teknologi Kimia.Vol.1(1): hlm 63.
- Langoy, M.L.D., Saroyo dan F.N.J. Dapas. 2011. **Deskripsi Alga Makro di Taman Wisata Alam Batuputih, Kota Bitung**. *Jurnal Ilmiah Sains*. **11**(2): halaman
- Lay. W.B. 1994. **Analisa Mikroba di Laboratorium**. Edisi I. PT. Raja Grafindo Persada: Jakarta
- Lide, D. R. 2005. Physical Constants of Organic Compounds in CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version. http://www.hbcpnetbase.com. CRC Press. Boca Raton, FL.
- Lisdawati, V., Sumali, W., L. Broto., Sk. 2006. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah Dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocapa*). Buletin Penelitian Kesehatan Vol. 34 (3):111-118.

- Maeno, Y., Leobert D. De La Pena and Erlinda R. Cruz-Lacierda. 2007. Susceptibility of Fish Species Cultured in Mangrove Brackish Area **to Piscine Nodavirus**. JARQ 41 (1), p : 95 – 99
- Makang, V.M.A. 2005. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. [Skripsi]. FMIPA UNSRAT. Manado.
- Mardaningsih, Fitri. 2012. Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Suhu Spray Dryer Terhadap Karakteristik Bubuk Klorofil Daun Alfafa (Medicago Sativa L.) Dengan Menggunakan Binder Maltodekstrin. Dalam Jurnal Teknosains Pangan Vol 1 (1).
- Morin, R. B., dan M. Gorman. 1995. Kimia dan Biologi Antibiotik β-lactam (Chemistry and Biology β-lactam Antibiotics). Edisi III. 84 Halaman.
- Marlinda, M., M.S. Sangi dan A.D. Wuntu. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill.). Jurnal MIPA UNSRAT Online.1(1): halaman 27.
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno dan N. Hidayati. 2014. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Klorofrom dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (Euphorbiae hirtae). Prosiding Seminar Nasional Kimia. Halaman 281-283.
- Nangude, T. D. 2007. Salt Formation Is An Acid Base Reaction Involving Either A Proton - Transfer Or Neutralization Reaction And Is Therefore By Factors Influencing Such Reactions. www.lookchem.com/cas-140/1401-55-4.html. Diakses tanggal 22 Februari 2015.
- Nuria, M.C.; Faizatun, A. dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, dan Salmonella typhi ATCC 1408. Mediagro. Vol. 5. No. 2. Hal: 26-37.
- Nursid, M., T. Wikanta dan R. Susilowati. 2013. Aktivitas Antioksidan, Sitotoksisitas dan Kandungan Fukosantin Ekstrak Rumput Laut Coklat dari Perairan Pantai Binuangeun, Banten. JPB Kelautan dan Perikanan. **8**(1): halaman 73.
- Oktaviani, M. 2011. Penggunaan Metode Freezing (-4°C) dengan Konsentrasi DMSO 5% Untuk Preservasi Strain-Strain Nostoc (Vaucher 1803) Bornet et Flahault 1886. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Departemen Biologi: Depok.
- Poncomulyo, T., M. Hertidan K. Lusi. 2006. Budi Daya dan Pengolahan Rumput Laut. PT. Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Purba, D.M., M.A. Wibowo Dan P. Ardiningsih. 2014. Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Sengkubak (Pycnarrhena Cauliflora **Diels)**. *Jkk*. Vol. 3(2): Hlm 9
- Putri, M.K.D., D. Pringgenies dan O.K. Radjasa. 2012. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastopoda (Telescopium telescopium) Terhadap Laarva Artemia salina. Journal of Marine Research.1(2): halaman 62.

- Potensi Alga Coklat di Indonesia dan Prospek Rachmat, R.1999. Pemanfaatannya.IFI. 31-35.
- Rasyid, A. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder-Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang Stichopus Hermanii. Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis. Vol. 4. (2): Hlm. 360-
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. ITB. Bandung
- Rostinawati, T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (Hibiscus sabdarifa L.) Terhadap Escheriachia coli, Salmonella typi dan Staphylococcus aureus dengan Metode Difusi Agar. Fakultas Farmasi. UNPAD: Jatinangor.
- Roth, H.J., dan Blaschke. G. 1998. Analisa Farmasi. Airlangga University Press. Surabaya
- Sa'ad. 2009. Aktivitas Antibakteri Alga Laut Cauplerpa racemosa Dari Perairan Pulau Nain. Vol VII (3)
- Sangi, M.S., L.I. Momuat dan M. Kumaunang. 2012. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (Arenga pinnata). Jurnal Ilmiah Sains. Vol. 12(2): hlm 132.
- Sastrohamidjojo, H., 2001, **Spektroskopi**, **4 5**, Liberty Press, Yogyakarta.
- Sastry and Rao. 1994. Antibacterial Substance From Marine Algae. Successive Extraction Using Benzene, Chloroform and Methanol. Department of Biochemistry, Institute of Medical Science, Banaras Hindu University. India
- Septiana, A.T. dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat Sargassum duplicatum Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Jurnal Agrointek. 6(1): halaman 1-2.
- Setiabudy, R dan V.H.S. Gan. 2005. Pengantar antimikroba dalam farmakologi dan terapi. Edisi keempat. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Simanjuntak, P. 1995. Senyawa Bioaktif dari Alga. Hayati 2 (2): Hal 49-51
- Siregar, A.F., A. Sabdono dan D. Pringgenies. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus epidermidis, dan Micrococcus luteus. Journal of Marine Research.1(2): halaman 153.
- Springbob K, Kutchan TM. 2009. Introduction to the different classes of natural products. In: Osbourn AE, Lanzotti V, editor. Plantderived Natural Products. Heidelberg: Springer.
- Sri, Windarwati. 2011. Pemanfaatan Fraksi Aktif Ekstrak Tanaman Jarak Pagar (Jatropha Curcas Linn.) Sebagai Zat Antimikroba Dan Antioksidan Dalam Sediaan Kosmetik. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.

- Sudarmadji, S, Amir, R dan Suhendri, L. 2007. **Analisa Bahan Makanan dan Pertanian**. Edisi I. Cetakan kelima. Yogyakarta: Liberty.
- Ummah, M. K. 2010. Ektraksi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh ( Averrhoa belimbi L.). Universitas Negri Maulana Malik Ibrahim: Malang
- Vogel. 1987. **Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro**. Edisi kelima. Bagian I. PT Kalman Pustaka. Jakarta.
- Warsinah., Kusumawati, E., Sunarto. 2011. Identifikasi Senyawa Antifungi Dari Kulit Batang Kecapi (Sandoricum koetjape) Dan Aktifitasnya Terhadap Candida albicans. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan. Universitas Jenderal Soedirman. Majalah Obat Tradisional, 16 (3), 165-173.
- Wikanta, T., A. Prabukusuma, D. Ratih dan H.I. Januar. 2010. Bioaktivitas Ekstrak Kasar Aseton, Fraksi, dan Subfraksinya dari *Ulva fasciata* Terhadap Sel Lestari Tumor HeLa. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.* 5(1): halaman 3.
- Yenni, O. Harmayanti, Adriani, Triana, F. dan Danang, S. 2015. **Arilbenzofuran**. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hassanuddin, Makassar.
- Yunianto, Hendi Perdian; Ita Widowati; Dan Ocky Karna Radjasa. 2014. Skrining Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Sargassum plagyophyllumdari Perairan Bandengan Jepara Terhadap Bakteri Patogen Enterobacter, Pseudomonas aeruginosa Dan Staphylococus aureus. Journal Of Marine Research. Vol. 3(3):165-172.

## Lampiran 1. Rendemen Sampel dan Rendemen Ekstrak

## Rendemen 1 (segar ke kering)

Beratsegar : 5 kg Beratkering : 2,3kg

$$=\frac{2,3}{5}$$
 x 100%

$$=0.46 \times 100\% = 46\%$$

## Rendemen 2 (sampel kering ke serbuk)

$$=\frac{1.8}{2.1}$$
 x 100%

## Rendemen 3 (Rendemen ekstrak)

Beratserbuk : 1,8 kg				
$=\frac{1.8}{2.1}$ x 100%	RSIT	AS B	RAW,	
=0,86 x 100% = 86%				
Rendemen 3 (Rendem				
vendenien 3 (ivenden	nen ekstrak)		<b>&amp;</b>	
S. echinocarpum	W (a)	W <sub>G</sub> 0(g)	W <sub>g</sub> 1(g)	-7
	W (a)		W <sub>G</sub> 1(g)	- <b>P</b>

Keterangan: Wp = berat sampel yang di ekstrak

W<sub>G</sub>0 = berat botol vial kosong

W<sub>G</sub>1 = berat botol vial isi

Rendemen ekstrak = 
$$\frac{W_G1-W_G0}{W_P}$$
 x 100%

## **Ekstrak dengan Metanol**

Rendemen ekstrak = 
$$\frac{7,85-5}{100}$$
 x 100%

## Ekstrak dengan Etanol

Rendemen ekstrak = 
$$\frac{7,31-5}{100}$$
 x 100%  
=0,0231 x 100%  
= 2,31%

## Lampiran 2. Pembuatan media MHA (Muller Hinton Agar)

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

Sumber: Label media MHA

## Cara pembuatan:

Dihitung

$$\textit{jumlah MHA yg dibutuhkan} = \frac{34 \, \text{x jumlah cawan x isi per cawan}}{1000}$$

Yang harus dibuat adalah 6 cawan dan dilihat dari metode masing-masing cawan berisi 20 ml.

$$jumlah \ MHA \ ygd \ ibutuhkan = \frac{34 \times 6 \times 20}{1000}$$

= 4,08 gram MHA yang diperlukan untuk 6 cawan

DMSO 10% = 10 ml DMSO murnidilarutkandalam 100 ml aquades.

$$=\frac{10}{100}$$
 x 100 %

Pembuatan 10.000 ppm

10.000: 1.000.000

: 100

BRA WILL 0,1 mg: 10 ml karena hanya membutuhkan 10 ml larutan.

0,1 mg sampel dilarutkan kedalam 10 ml DMSO 10%.

Pembuatan 5000 ppm

$$=\frac{a}{10.000}$$
 konsentrasi yang akan dibuat

$$=\frac{5000}{10.000}$$

$$= 0,5$$

Dibuat dalam 10 ml (DMSO+ekstrak)

Jadi, 0,5 x 10 (jumlah larutan yang akan dibuat)

= 5 ml (diambil dari konsentrasi 10.000 ppm)

Karena volume keseluruhan yang akan dibuat adalah 10 ml, jadi larutan DMSO 10% ditambahkan sebanyak:

$$5 + a = 10 \text{ ml} \longrightarrow \text{volume keseluruhan}$$

Dari konsentrasi 10.000 ppm

$$a = 10 - 5$$

a = 5 ml larutan DMSO 10%

Pembuatan 500 ppm

BRAWIUNA

$$= \frac{a}{5000}$$
 konsentrasi yang akan dibuat
$$= \frac{500}{5000}$$

Jadi 0,1 x 10 (jumlahlarutan yang akandibuat)

= 1 ml (diambil dari konsentrasi 5000 ppm)

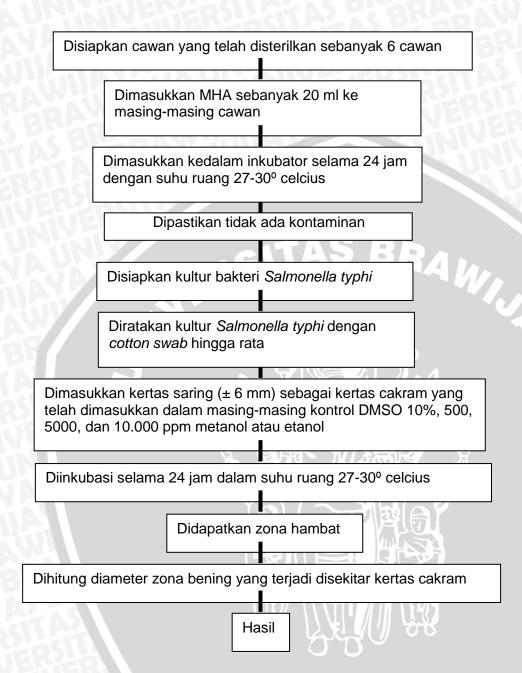
Jadilarutan DMSO 10% ditambahsebanyak:

Dari konsentrasi 5000 ppm

$$a = 10 - 1$$

a = 9 ml larutan DMSO 10%





Perhitungan diameter zona hambat.

 $D_{zs} = D_a - D_{ks}$ 

Keterangan: Dzs : Diameter zona sesungguhnya

D<sub>a</sub>: Diameter zona analisa

D<sub>ks</sub> : Diameter zona kertas saring

# Lampiran 5. Rancangan Acak Lengkap dari Data Hasil Zona Hambat

## Sargassumechinocarpum terhadap Salmonella typhi

Per	lakuan		ulan	gan		total	rata-	SD
pelarut	Konsentrasi	IAU	II		IV	total	rata	
	K	1.61	1.58	1.56	1.65	6.4	1.6	0.039158
	500	3.25	3.35	3.55	3.4	13.55	3.3875	0.125
metanol	5000	4	4.05	4.25	4.3	16.6	4.15	0.147196
	10000	4.35	5.3	5.1	4.9	19.65	4.9125	0.409013
410	K	1.91	1.73	1.55	1.62	6.81	1.7025	0.156924
atonal	500	2.95	2.15	2.55	1.75	9.4	2.35	0.516398
etanol	5000	3.05	2.85	3.4	3.5	12.8	3.2	0.302765
	10000	4.45	4.6	4.9	4.35	18.3	4.575	0.239792
	total	25.57	25.61	26.86	25.47	103.51	25.8775	

~ /			^ rata-				
Pelarut	kontrol +	500 ppm	5000 ppm	10000 ppm	total	rata	SD
metanol	6.4	13.55	16.6	19.65	56.2	14.05	5.675532
etanol	6.81	9.4	12.8	18.3	47.31	11.8275	4.963435
total	13.21	22.95	29.4	37.95	103.51		
rata- rata	6.605	11.475	14.7	18.975	51.755	9	

	JK					JK
Ĭ	FK	TOTAL	JK K	JK p	JK p*K	GALAT
ŀ					-	
ľ	334.8225	47.045	5061.854	5676.716	10693.5	1.939725

Sk	db	Jk	Kt	f hit	f 0,05	f 0,01	kesimpulan
perlakuan							
р	1	5676.716	5676.716	70237.37	4.26	7.82	berbedanyata
perlakuan							
k	3	5061.854	1687.285	20876.58	3.01	4.72	berbedanyata
P*k	3	-10693.5	-3564.49	-44103	3.01	4.72	tidaberbedanyata
galat	24	1.939725	0.080822				
total	31						

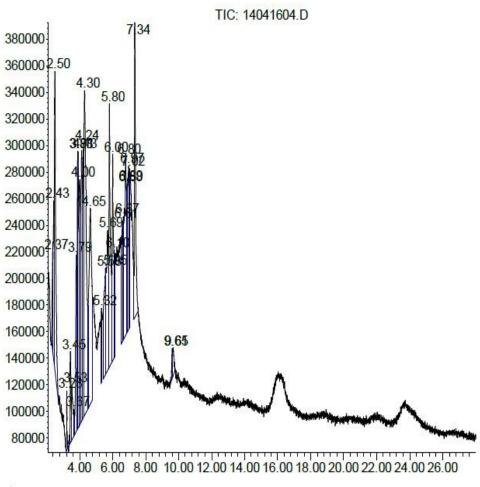
AS BRAWING PLANE

uji berganda			
duncan's			
perlakuan			
Р	0.142146		
nilai	2		
JND 5%	6.085		
JNT	0.864958		

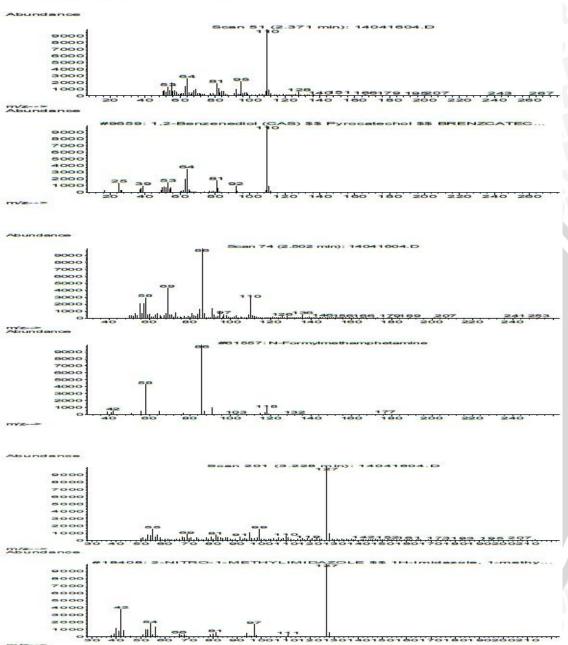
NOTASI		
PERLAKUAN		
PELARUT		
	RATA	
PERLAKUAN	RATA	NOTASI
P2	11.8275	Α
P1	14.05	В

uji be	rganda dun	can's	
perlakuan			
k	0.284292		
nilai	2	3	4
JND 5%	3.926	4.013	4.033
JNT	1.11613	1.140863	1.146549
		Ų	3 7
			K (E)

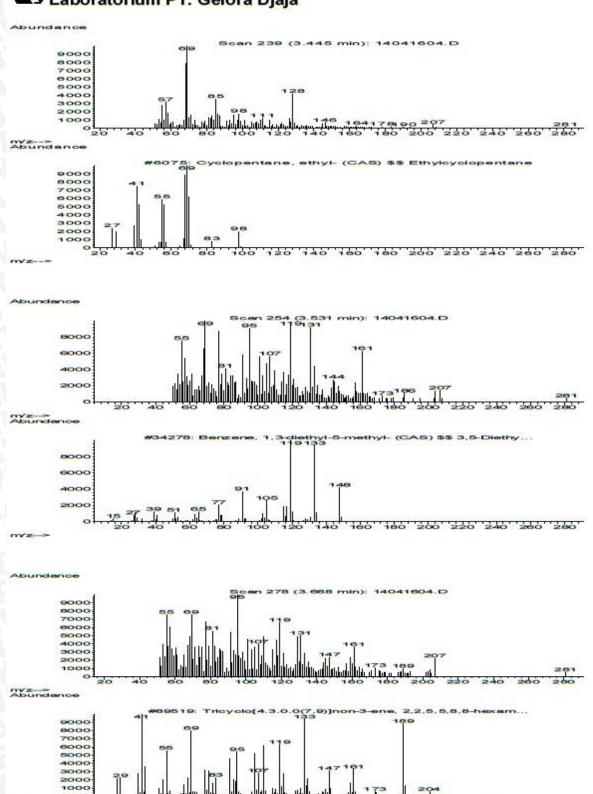
NOTASI PERLAKUAN KONSENTRASI			
PERLAKUAN	RATA RATA	NOTASI	
K kontrol	6.605	Α	
K 500	11.475	Α	
K 5000	14.7	В	
K 10000	18.975	С	

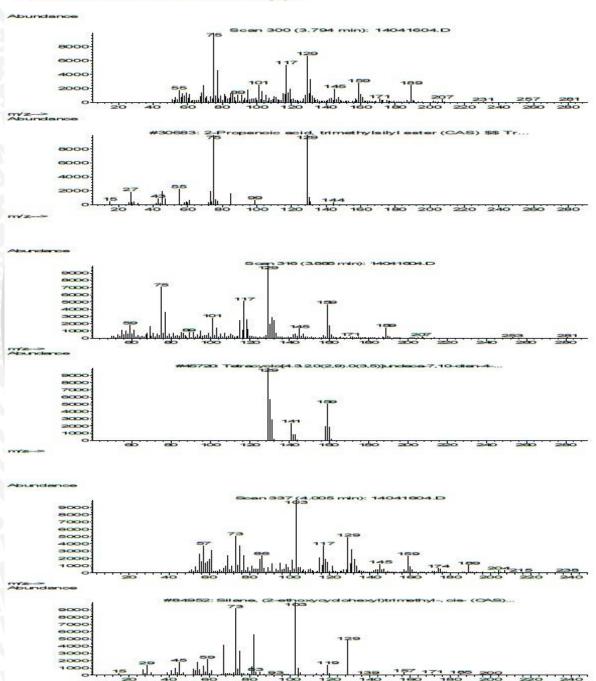


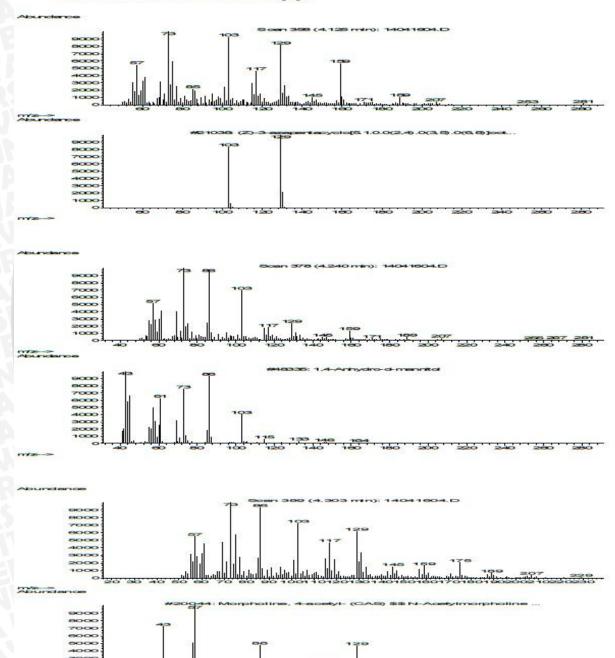
Time->



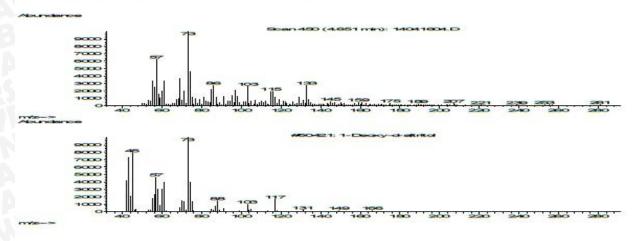


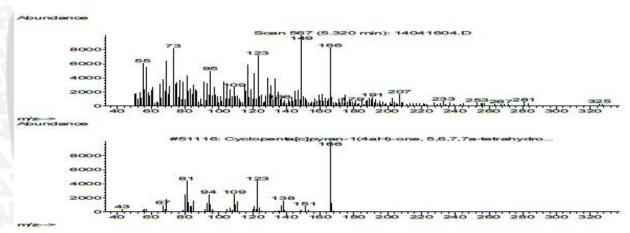


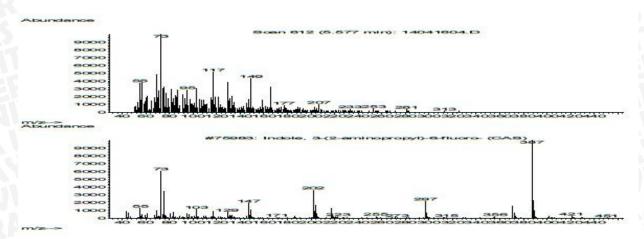




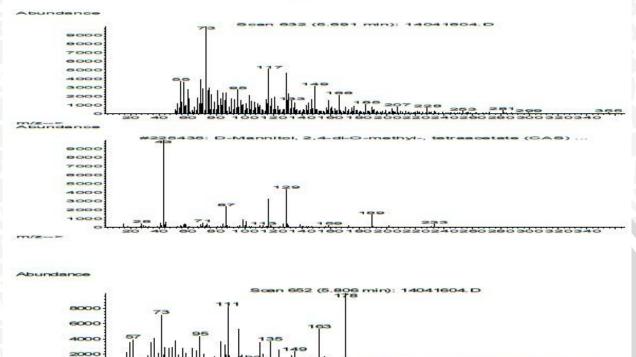


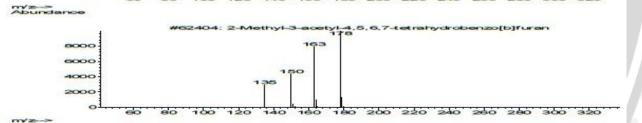


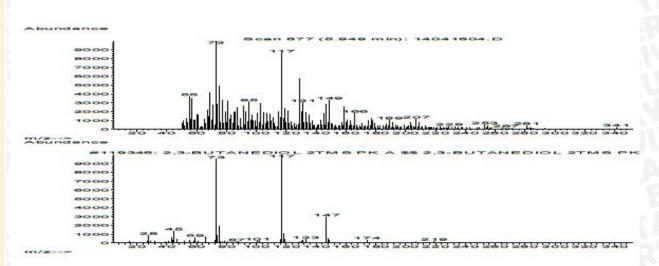


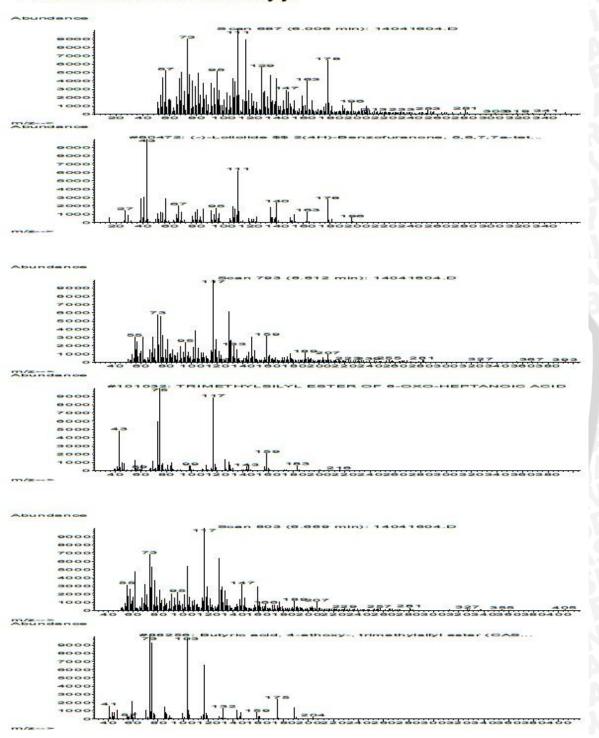




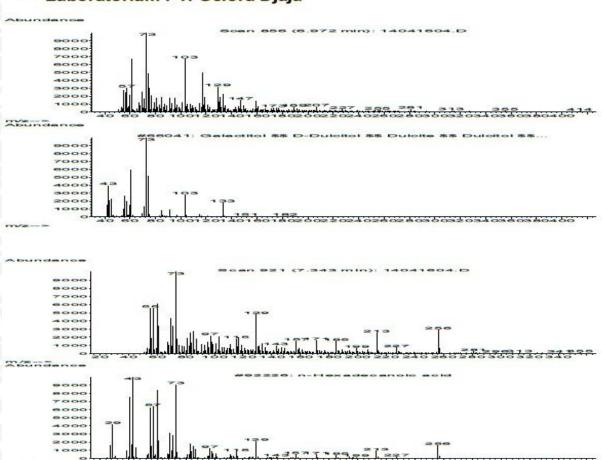














Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM\1\DATA\14041604.D

Operator: SRA

Date Acquired: 14 Apr 2016 15:12 Method File: M RUMPUT LAUT16 Sample Name: 16/16/108/MS (ULUL)

Misc Info: BRAWIJAYA

Vial Number: 8

Search Libraries: C:\Database\NIST02.L Minimum Quality: 85

C:\Database\Wiley275.L Minimum Quality: 85

Unknown Spectrum: Apex

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual		
1 :	2.37	37 1.16 C:\Database\Wiley275.L						
		1,2-Benze	enediol (CAS) \$\$ P	yroca 96	359 000	120-80-9 76		
		1,2-Benze	enediol (CAS) \$\$ P	yroca 96	362 000	120-80-9 64		
			enediol (CAS) \$\$ P		360 000	120-80-9 64		
2 2.4	2.43	1.97 C:\Da	atabase\Wiley275.L					
			enediol (CAS) \$\$ P		359 000	120-80-9 43		
			-ethoxy- (CAS) \$\$					
			enediol (CAS) \$\$ P			120-80-9 38		
3	2.50	6.45 C:\Da	atabase\Wiley275.L					
			methamphetamine		557 0000	000-00-0 47		
			inoacetone \$\$ 2-P		166 001	620-14-0 47		
			methamphetamine			000-00-0 47		
4	3.23	0.46 C:\Da	atabase\Wiley275.L					
233	A STATE OF THE PARTY OF THE PAR		1-METHYLIMIDAZ		I 1840	8 001671-82-5 5	53	
			1-METHYLIMIDAZ					

- 5-NITRO-1-METHYLIMIDAZOLE \$\$ 1H... 18423 003034-42-2 53
- 5 3.45 1.08 C:\Database\Wiley275.L Cyclopentane, ethyl- (CAS) \$\$ E... 6075 001640-89-7 47 Cyclopentane, ethyl- (CAS) \$\$ E... 6074 001640-89-7 47 Cyclopentane, ethyl- (CAS) \$\$ E... 6076 001640-89-7 47
- 6 3.53 1.18 C:\Database\Wiley275.L Benzene, 1,3-diethyl-5-methyl- ... 34278 002050-24-0 38 89577 000489-39-4 25 Aromadendrene TRICYCLO[4.1.0.0(3,5)]HEPTANE, ... 89517 000000-00-0 25
- 7 3.67 0.33 C:\Database\Wiley275.L Tricyclo[4.3.0.0(7,9)]non-3-ene... 89519 054832-80-3 47 .alpha.-Thujone \$\$ Bicyclo[3.1.... 38245 000546-80-5 30 3-ETHYLCYCLOPENT-2-EN-1-ONE \$\$ ... 9796 000000-00-0 25

- 8 3.79 2.91 C:\Database\Wiley275.L 2-Propenoic acid, trimethylsily... 30683 013688-55-6 30 Butanedioic acid, methoxy-, dim... 60167 004148-97-4 27 2-Propenoic acid, trimethylsily... 30682 013688-55-6 25
- 9 3.89 2.84 C:\Database\Wiley275.L Tetracyclo[4.3.2.0(2,9).0(3,5)]... 45720 057122-23-3 53 2(1H)-Quinolinone, hydrazone \$\$... 44679 015793-77-8 38 Pentanoic acid, trimethylsilyl ... 58710 026429-16-3 35
- 10 3.91 3.26 C:\Database\Wiley275.L Tetracyclo[4.3.2.0(2,9).0(3,5)]... 45720 057122-23-3 53 2(1H)-Quinolinone, hydrazone \$\$... 44679 015793-77-8 30 2-Propenoic acid, trimethylsily... 30684 013688-55-6 22
- 11 4.01 5.56 C:\Database\Wiley275.L Silane, (2-ethoxycyclohexyl)tri... 84952 055670-10-5 35 2,2,19,19-TETRAMETHYL-3,7,11,14... 226293 000000-00-0 35 Hexane, 1,1-diethoxy- (CAS) \$\$ ... 59044 003658-93-3 32
- 12 4.13 6.64 C:\Database\Wiley275.L (Z)-3-azapentacyclo[5.1.0.0(2,4... 21038 133868-00-5 47 2,2,12,12-TETRAMETHYL-3,7,11-TR... 159715 000000-00-0 27 Silane, [3-(2,3-epoxypropoxy)pr... 102904 017963-04-1 27
- 13 4.24 4.39 C:\Database\Wiley275.L 1,4-Anhydro-d-mannitol 48335 000000-00-0 53 1-phenyl--1-eacetoxyl-2-acetyla... 120687 000000-00-0 35 Butanal, 2-methyl- (CAS) \$\$ 2-M... 3299 000096-17-3 25
- 14 4.30 11.07 C:\Database\Wiley275.L Morpholine, 4-acetyl- (CAS) \$\$ ... 20044 001696-20-4 22 1,4-Anhydro-d-mannitol 48335 000000-00-0 14 trans-4,6-Dimethyl-1,3-dioxan 13201 003390-18-9 14
- 15 4.65 8.77 C:\Database\Wiley275.L 1-Deoxy-d-altritol 50421 000000-00-0 38 .alpha.-D-Xylofuranoside, methy... 61828 035007-57-9 37 1-Desoxy-d-mannitol 50420 000000-00-0 30
- 16 5.32 0.93 C:\Database\Wiley275.L Cyclopenta[c]pyran-1(4aH)-one, ... 51116 000490-10-8 48 1,4-Benzenedicarboxylic acid (C... 50512 000100-21-0 38 1,4-Benzenedicarboxylic acid (C... 50513 000100-21-0 30
- 17 5.58 3.10 C:\Database\Wiley275.L Indole, 3-(2-aminopropyl)-6-flu... 75983 000712-11-8 38 BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-EN-6-SPIRO... 78521 000000-00-0 22 Boric acid (H3BO3), tripropyl e... 72348 000688-71-1 14

- 18 5.69 4.35 C:\Database\Wiley275.L D-Mannitol, 2,4-di-O-methyl-, t... 225435 024406-90-4 35 2,2,18,18-TETRAMETHYL-3,6,10,14... 219697 000000-00-0 22 Tetradecanoic acid (CAS) \$\$ Myr... 114435 000544-63-8 18
- 19 5.81 5.91 C:\Database\Wiley275.L 2-Methyl-3-acetyl-4,5,6,7-tetra... 62404 071041-33-3 64 Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-pro... 62373 000093-16-3 60 (+)-Isololiolide \$\$ 2(4H)-Benzo... 80475 038274-00-9 52
- 20 5.95 0.51 C:\Database\Wiley275.L 2,3-BUTANEDIOL 2TMS PK A \$\$ 2,3... 119346 000000-00-0 27 2,3-BUTANDIOL, BIS-O-(TRIMETHYL... 119344 053274-85-4 27 Undecanoic acid, 11-fluoro-, tr... 158274 026305-97-5 22
- 21 6.01 3.87 C:\Database\Wiley275.L (-)-Loliolide \$\$ 2(4H)-Benzofur... 80472 005989-02-6 95 (-)-Loliolide \$\$ 2(4H)-Benzofur... 80473 005989-02-6 41 1-(5',5'-Dimethyl-6-vinyl-1'-cy... 93966 095452-18-9 30
- 22 6.10 0.94 C:\Database\Wiley275.L TRIMETHYLSILYL ESTER OF 6-OXO-H... 101032 000000-00-0 38 2-Methoxy-5-ethyl-5-phenyl-4-ox... 106544 000000-00-0 38 2-METHOXY-5-ETHYL-5-PHENYL-4-OX... 106454 056440-40-5 30
- 23 6.61 2.75 C:\Database\Wiley275.L TRIMETHYLSILYL ESTER OF 6-OXO-H... 101032 000000-00-0 42 2-Methoxy-5-ethyl-5-phenyl-4-ox... 106544 000000-00-0 35 7-Methyltetracyclo[3.3.0.0(2,4)... 14348 082478-49-7 27
- 24 6.67 1.42 C:\Database\Wiley275.L Butyric acid, 4-ethoxy-, trimet... 88256 021273-25-6 44 PENTITOL-1,1-D2, 2-DESOXY-TETRA... 243027 000000-00-0 35 TRIMETHYLSILYL ESTER OF 6-OXO-H... 101032 000000-00-0 30
- 25 6.79 5.72 C:\Database\Wiley275.L Butyric acid, 4-ethoxy-, trimet... 88256 021273-25-6 38 Silane, [3-(2,3-epoxypropoxy)pr... 102904 017963-04-1 22 Pentanoic acid, 4-methyl-2-[(tr... 158055 054890-08-3 22
- 26 6.87 0.86 C:\Database\Wiley275.L 1-O-HEPTYL-D-MANNITOL 161412 000000-00-0 22 Silane, [3-(2,3-epoxypropoxy)pr... 102904 017963-04-1 14 2,2,18,18-TETRAMETHYL-3,6,10,13... 219696 000000-00-0 14
- 27 6.90 0.97 C:\Database\Wiley275.L Pentanedioic acid, 3-hydroxy-, ... 60161 007250-55-7 27 .beta.-Sedoheptitol 96997 000000-00-0 25 METHYL ESTER OF 3-HYDROXY-DODEC... 116111 072864-23-4 22



28 6.97 3.35 C:\Database\Wiley275.L Galactitol \$\$ D-Dulcitol \$\$ Dul... 66041 000608-66-2 43 2,3,4,5-TETRAHYDROXYPENTANAL-(1) 34925 000000-00-0 43 96996 000000-00-0 30 d-Glycero-d-manno-heptitol

29 7.02 0.84 C:\Database\Wiley275.L Galactitol \$\$ D-Dulcitol \$\$ Dul... 66041 000608-66-2 38 D-ARABITOL 36921 000488-82-4 35 d-Glycero-d-manno-heptitol 96996 000000-00-0 27

30 7.34 5.45 C:\Database\NIST02.L n-Hexadecanoic acid 92226 000057-10-3 98 n-Hexadecanoic acid 92228 000057-10-3 98 n-Hexadecanoic acid 92227 000057-10-3 83

31 9.61 0.31 C:\Database\Wiley275.L Koiganal II 148377 000000-00-0 51 1-methyl-2-(3-methyl-2-buten-1-... 108495 108287-20-3 50 D-Homoandrostane, (5.alpha., 13.... 157236 054482-31-4 49

32 9.65 0.63 C:\Database\Wiley275.L 3-(1'-lsopropyl-2',2'-dimethylc... 83411 074055-13-3 78 1-methyl-2-(3-methyl-2-buten-1-... 108495 108287-20-3 60 1-formyl-2,2,6-trimethyl-3-(3-m... 106055 108287-18-9 55

Mon Apr 18 13:52:09 2016

# BRAWIJAYA

#### Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian















#### SITAS BRA

