

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR KERANG HIJAU  
(*Perna viridis*) DENGAN PELARUT N-HEKSAN TERHADAP  
*Streptococcus pyogenes* DAN *Salmonella typhi***

**SKRIPSI**

Oleh:

**WIKE YUNI SURYANINGTYAS  
NIM. 135080301111147**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR KERANG HIJAU  
(*Perna viridis*) DENGAN PELARUT N-HEKSAN TERHADAP  
*Streptococcus pyogenes* DAN *Salmonella typhi***

**SKRIPSI**

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

Oleh:

**WIKE YUNI SURYANINGTYAS  
NIM. 135080301111147**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
Desember, 2017**

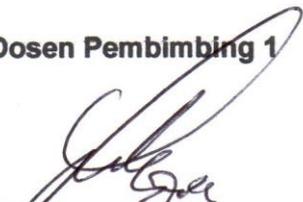
SKRIPSI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR KERANG HIJAU  
(*Perna viridis*) DENGAN PELARUT N-HEKSAN TERHADAP  
*Streptococcus pyogenes* DAN *Salmonella typhi*

Oleh:  
**WIKE YUNI SURYANINGTYAS**  
NIM. 135080301111147

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 19 Desember 2017  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1

  
(Dr. Ir. Yahya, MP.)  
NIP. 19630706 199003 1 005  
Tanggal: 24 MAY 2018

Menyetujui,

Dosen Pembimbing 2

  
(Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS.)  
NIP. 19600322 198601 1 001  
Tanggal: 24 MAY 2018

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan

  
(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.)  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal: 24 MAY 2018



Judul: **AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DENGAN PELARUT N-HEKSAN TERHADAP *Streptococcus pyogenes* DAN *Salmonella typhi***

Nama Mahasiswa : WIKE YUNI SURYANINGTYAS

NIM : 135080301111147

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

**PENGUJI PEMBIMBING:**

Pembimbing 1 : DR. IR. YAHYA, MP.

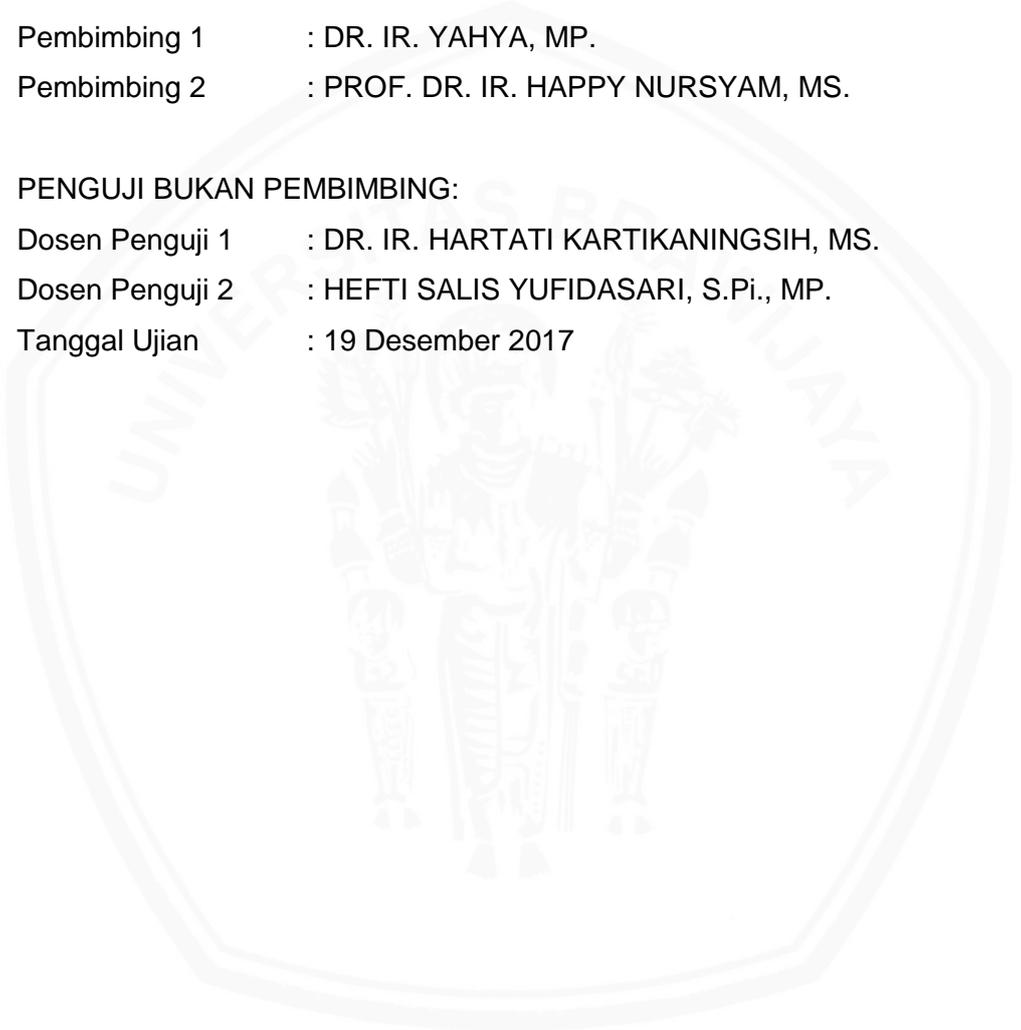
Pembimbing 2 : PROF. DR. IR. HAPPY NURSYAM, MS.

**PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:**

Dosen Penguji 1 : DR. IR. HARTATI KARTIKANINGSIH, MS.

Dosen Penguji 2 : HEFTI SALIS YUFIDASARI, S.Pi., MP.

Tanggal Ujian : 19 Desember 2017



## UCAPAN TERIMAKASIH

Atas terselesainya laporan skripsi ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia, kesehatan, dan perlindungan yang diberikan selama ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Bapak Dr. Ir. Yahya, MP. selaku Dosen Pembimbing 1, yang dengan penuh kesabaran telah banyak memberikan pengarahan serta bimbingan sejak penyusunan usulan sampai dengan selesainya penyusunan skripsi ini, menampung kami di rumah beliau untuk bimbingan, memberikan jas hujannya untuk penulis ketika pulang bimbingan namun hari sedang hujan, mencarikan jurnal-jurnal internasional, dan banyak bantuan-bantuan yang diberikan beliau yang tidak bisa penulis sebut satu per satu.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS. selaku Dosen Pembimbing 2, yang telah memberikan pengarahan serta bimbingan sampai dengan selesainya penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes. selaku Ketua Program Studi THP.
5. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MP. selaku Dosen Penguji 1 dan Ibu Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP. selaku Dosen Penguji 2.
6. Bapak dan Ibu Dosen beserta jajaran staf Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.
7. Orangtua tercinta, terkasih, tersegalanya, babeh Sukiyat serta ibu Mujiatun yang telah memberikan dukungan moral, material maupun non material, memberikan semangat yang luar biasa dalam setiap langkah penyusunan skripsi ini, doa yang tiada henti-hentinya, dan perjuangan yang luar biasa

- kerasnya demi pendidikan anak-anaknya, terimakasih sudah menjadi penguatku.
8. Dadang Heru Susanto, Brige Ariep Kelana, Luhana Beti Sundari selaku kakak kandung penulis yang telah memberikan dukungan yang luar biasa dalam setiap langkah penulisan skripsi. Serta keponakan terkasih Yunika Putri Rivana, Yuwa Trisanti Azaria, Raka, Revan, dan Risma.
  9. Nde Listyawati dan The Poh Anang serta Bulek Lilis, Paklek Mustofa, dan dek Ais yang telah banyak menolong penulis selama sekolah dan kuliah, telah banyak memberikan dukungan material maupun non material.
  10. Tim Kerang Ajaib yaitu Aswin, Rara, Badi'atuz, Nabila (Bella), Rian, Angwen (Awe), Izet, Ella, dan Andri yang telah berjuang bersama-sama untuk menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
  11. Sahabat ter-segala-galanya "*Sisters*" yaitu Duwinda Ainurrohma, Sevhani Mulyoningsih, Lysa Nindya Kristantika, Lia Afifah Kholid, Yuniar Fakhrun Nisa, Lutfiana, Indaka Juliani Siddiq, Relu Kurniawati, Mourin Jessica Arta Nauli Tampubolon, Aqni Grahito dan Deasy Evelin Sicilia Simamora yang selalu ada disaat penulis sedang senang, sedih, galau, pusing, khawatir, dan telah menjadi inspirasi bagi penulis untuk senantiasa ingat menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih sudah mau direpotkan oleh penulis.
  12. Teman-teman dan adek-adek kos "Kanjeng Mami" yang telah banyak berjasa menampung penulis ketika penulis tidak bisa pulang.
  13. Karang Taruna desa Judel yang telah banyak memberikan semangat, doa, dan bantuan terutama mbak Astri Mu'alifah, mbak Putri. Juga rekan-rekan lain seperti Bagus, Lutfi, Mahendro, Vicky, dan banyak lagi yang tidak bisa penulis sebut satu per satu.
  14. "ASB sekeluarga" yang telah memberikan dukungan, semangat, bantuan, dan doa kepada penulis.

15. Teman-teman sebimbangan “Pejuang Pak Yahya” dan keluarga THP '13 yang telah memberikan dukungan, banyak memberikan ilmu, dan telah menjadi inspirasi kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Kesempurnaan hanya milik Allah SWT dan segala bentuk kekurangan hanyalah miliki kita sebagai manusia, termasuk penulis menyadari dengan sepenuhnya kekurangan dari skripsi ini yang jauh dari kesempurnaan. Dengan segala keterbatasan kemampuan dan kerendahan hati, semoga skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pembaca.

Malang, 19 Desember 2017

Penulis



## RINGKASAN

**WIKE YUNI SURYANINGTYAS.** Skripsi tentang Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Kerang Hijau (*Perna viridis*) dengan Pelarut N-heksan Terhadap *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Yahya, MP.** dan **Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS.**)

Antibakteri merupakan senyawa kimia atau biologi yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Antibakteri alami umumnya berasal dari tanaman, hewan, maupun organisme dengan melakukan proses pengekstrakan misalnya pada kerang. Kerang hijau (*Perna viridis*) merupakan salah satu jenis kerang-kerangan yang berpotensi sebagai sumber antibakteri. Kandungan asam lemak omega-3 yang terdapat dalam tubuh kerang hijau dimungkinkan dapat menjadi antibakteri. Maka dari itu perlu adanya uji aktivitas antibakteri untuk mengetahui benar adanya aktivitas antibakteri pada kerang hijau. Bakteri uji yang digunakan adalah *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram positif dan gram negatif yang bersifat patogen.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2017 di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium Mineral dan Material Maju Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian dibagi menjadi 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi ekstraksi kerang hijau dengan metode maserasi menggunakan pelarut n-heksan yang merupakan pelarut lemak atau non polar dan perhitungan rendemen. Hasil maserasi kemudian dievaporasi. Lalu dilakukan penelitian utama yaitu ekstrak kasar hasil evaporasi diuji aktivitas antibakterinya dengan metode cakram dan diidentifikasi senyawa kimianya dengan uji FT-IR.

Terbentuknya zona bening pada media menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh antibakteri yang diberikan. Didapatkan rata-rata terbaik zona hambat terhadap *Streptococcus pyogenes* pada konsentrasi 8000 ppm sebesar 1,26 mm dan pada *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 8000 ppm sebesar 0,83 mm. Hasil uji FT-IR menunjukkan pita serapan yang terdapat pada daerah bilangan gelombang  $1647\text{ cm}^{-1}$ ,  $2094\text{ cm}^{-1}$ ,  $2841\text{ cm}^{-1}$ , dan  $2941\text{ cm}^{-1}$  dengan gugus dugaan masing-masing adalah C=C Alkena aromatik, O-H Alkohol dan fenol (ikatan hidrogen), dan C-H Alkana. Dimana gugus dugaan C=C, C-H, O-H sesuai dengan struktur asam linoleat (EPA dan DHA).

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk pelarut yang berbeda dan mengidentifikasi lebih lanjut senyawa-senyawa asam lemak dan turunannya sebagai antibakteri. Serta perlu dilakukan uji lanjut GC-MS untuk mengetahui kandungan asam lemak.



## KATA PENGANTAR

Penulis menyajikan laporan penelitian yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Kerang Hijau (*Perna Viridis*) dengan Pelarut N-Heksan terhadap *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Di bawah bimbingan:

1. Dr. Ir. Yahya, MP.
2. Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS.

Terdapatnya aktivitas antibakteri senyawa asam linolenat (EPA dan DHA) pada ekstrak kasar kerang hijau (*Perna viridis*) dengan pelarut n-heksan terhadap *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi* dengan konsentrasi terbaik aktivitas antibakteri pada perlakuan konsentrasi 8000 ppm untuk kedua bakteri. Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat dijadikan informasi bagi masyarakat umum dan bermanfaat bagi semua yang membutuhkan.

Malang, Desember 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMAKASIH.....	iv
RINGKASAN .....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
1.6 Waktu dan Tempat .....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kerang Hijau ( <i>Perna viridis</i> ).....	6
2.2 Ekstraksi.....	8
2.3 Pelarut.....	10
2.3.1 N-Heksan .....	11
2.3.2 Tetrasiklin .....	11
2.3.3 DMSO ( <i>Dimethyl Sulfoxide</i> ).....	13
2.4 Antibakteri .....	13
2.4.1 Asam Lemak sebagai Antibakteri.....	14
2.4.2 Bakteri Uji .....	18
2.6 Uji Cakram.....	20
2.7 Spektrofotometri FTIR ( <i>Fourier Transform Infrared</i> ).....	22
3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Materi Penelitian .....	24
3.1.1 Bahan Penelitian .....	24
3.1.2 Alat Penelitian.....	24
3.2 Metode Penelitian .....	25
3.2.1 Rancangan Penelitian.....	25
3.3 Penelitian Pendahuluan.....	27
3.3.1 Ekstraksi Kerang Hijau ( <i>Perna viridis</i> ).....	27
3.3.2 Rendemen.....	27
3.4 Penelitian Utama .....	27
3.4.1 Pembuatan Media Agar Miring untuk Peremajaan Bakteri.....	28
3.4.2 Pembuatan Media Cair (NB).....	28
3.4.3 Persiapan Suspensi Bakteri.....	29
3.4.4 Pembuatan Media Padat (MHA) .....	29
3.4.5 Konsentrasi Ekstrak Uji, Kontrol Positif, Kontrol Negatif, dan Kontrol Pelarut.....	29
3.4.6 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram .....	30
3.4.7 Uji Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) .....	30
3.4.8 Analisis Data.....	31

4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	32
4.1 Rendemen.....	32
4.2 Kandungan Asam Lemak pada Kerang Hijau ( <i>Perna viridis</i> ).....	33
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram.....	35
4.4 Uji Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) .....	41
5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN .....	49



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sifat Fisik dan Kimia Pelarut N-Heksan.....	11
Tabel 2. Karakteristik Standar Sensitivitas Antibiotik.....	12
Tabel 3. Kategori Zona Hambat.....	22
Tabel 4. Rancangan Acak Lengkap (RAL) Uji Daya Hambat .....	26
Tabel 5. Data Rendemen Ekstrak Kerang Hijau ( <i>Perna viridis</i> ).....	32
Tabel 6. Nilai Diameter Zona Bening Ekstrak N-Heksan Kerang Hijau ( <i>Perna viridis</i> ) pada Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	37
Tabel 7. Nilai Diameter Zona Bening Ekstrak N-Heksan Kerang Hijau ( <i>Perna viridis</i> ) pada Bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	37
Tabel 8. Panjang Gelombang dan Gugus FTIR .....	42



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerang Hijau ( <i>Perna viridis</i> ) .....	1
Gambar 2. <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	19
Gambar 3. <i>Salmonella typhi</i> .....	20
Gambar 4. Hasil Uji Cakram .....	36
Gambar 5. Grafik Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kerang Hijau dengan Beberapa Perlakuan terhadap Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	39
Gambar 6. Grafik Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kerang Hijau dengan Beberapa Perlakuan terhadap Bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	39
Gambar 7. Hasil Uji FTIR.....	41



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ekstraksi Kerang Hijau .....	49
Lampiran 2. Pembuatan Media Agar Miring untuk Penyegaran Bakteri .....	50
Lampiran 3. Pembuatan Media Cair NB Steril.....	51
Lampiran 4. Persiapan Suspensi Bakteri .....	52
Lampiran 5. Pembuatan Media Padat.....	53
Lampiran 6. Uji Aktivitas dengan Metode Cakram.....	54
Lampiran 7. Data Pengamatan Zona Bening dengan Metode Difusi (Cakram) ..	55
Lampiran 8. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Kasar Kerang Hijau.....	56
Lampiran 9. Dokumentasi Hasil Cakram dan FTIR .....	57
Lampiran 10. Perhitungan.....	58
Lampiran 11. Uji Anova dan Uji Lanjut <i>Tukey</i> terhadap <i>S. pyogenes</i> .....	61
Lampiran 12. Uji Anova dan Uji Lanjut <i>Tukey</i> terhadap <i>S. typhi</i> .....	63



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Antibakteri adalah senyawa kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Senyawa antibakteri merupakan salah satu senyawa antimikroba yang didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri (Pelczar dan Chan, 1988). Antibakteri sebagai substansi dapat berupa senyawa kimia sintetik atau produk alami. Antibakteri alami umumnya berasal dari tanaman, hewan, maupun organisme dengan melakukan proses pengekstrakan misalnya pada kerang (Pebrian, 2010). Hewan-hewan laut tidak terlindungi dari bakteri-bakteri yang toleran terhadap konsentrasi tinggi, jamur, dan virus, yang mungkin saja bersifat patogen terhadap organisme tersebut. Pertahanan dari suatu organisme tergantung dari efisiensi senyawa antimikroba yang dihasilkan untuk dapat melindungi dirinya terhadap infeksi mikroba tersebut (Akerina, *et al.* 2015)

Kerang merupakan bahan pangan yang digemari masyarakat sejak dahulu, dijadikan sebagai obat tradisional. Secara tradisional telah terbukti dimanfaatkan sebagai substansi aktif dalam bidang obat-obatan. Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan kerang mengandung senyawa yang dapat menghambat beberapa jenis bakteri (Hasan, *et al.* 2014). Kerang hijau (*Perna viridis*) merupakan salah satu biota yang mampu bertahan hidup dan berkembangbiak pada tekanan ekologis yang tinggi, bersifat *filter feeder*, dan dominan hidup pada ekosistem litoral (wilayah pasang surut) dan sublitoral yang dangkal (Rahayu, 2014).

Ditinjau dari lingkungan hidupnya, dimungkinkan bivalvia ini mampu melawan bakteri dan jenis-jenis penyakit yang ada di sekitar lingkungan hidupnya dengan menggunakan senyawa yang terkandung dalam tubuhnya. Oleh karena itu, untuk mengetahui kemampuan senyawa antibakteri bivalvia dalam menghambat pertumbuhan bakteri perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri (Rochmawati, *et al.* 2015). Pada daging kerang hijau terdapat zat yang dapat membantu meningkatkan kerja organ hati dalam tubuh manusia. Ekstrak daging kerang hijau bermanfaat sebagai antireumatik dan *arthritis* (penyakit radang sendi) (Pebrian, 2010). Menurut Chandran, *et al.* (2009), produk alami yang diisolasi dari bivalvia maupun gastropoda telah dimanfaatkan antara lain sebagai antioksidan, antitumor, antivirus, antibakteri, antijamur, antikanker, sitotoksik, dan penghambat enzim. Ekstraksi daging kerang hijau, menunjukkan bahwa ekstrak daging kerang hijau berpotensi sebagai sumber senyawa antibakteri.

Lebih dari seratus senyawa antimikroba baru diisolasi setiap tahun dari invertebrata laut, seperti gastropoda dan bivalvia yang menunjukkan spektrum luas sifat antimikroba. Dalam beberapa tahun terakhir dengan signifikan telah ditemukan aktivitas antibakteri dari moluska. Lebih dari seribu senyawa baru telah dikategorikan dari invertebrata laut seperti peptida, terpen, polipropionat, senyawa nitrogen, polipeptida, makrolida, prostaglandin, produk asam lemak, sterol dan beragam senyawa lainnya (Kiran, *et al.* 2014).

Komoditas perikanan umumnya merupakan sumber asam lemak omega-3 (Nurjanah, *et al.* 2013). Menurut Chan, *et al.* (2004), salah satu kandungan zat gizi yang terdapat pada kerang hijau adalah asam lemak. Kandungan lemak dan asam lemak dalam jaringan lunak kerang hijau, spesies yang tersebar luas di daerah tropis dan subtropis telah diselidiki. Kerang hijau kaya akan DHA dan EPA, bermanfaat bagi kesehatan manusia. Moluska diduga memiliki kandungan asam lemak omega-3 dan omega-6 yang bermanfaat bagi

perkembangan otak dan untuk mencegah penyakit jantung. Ada dua jenis asam lemak omega-3 yaitu *docosahexaenoic acid* (DHA) dan *eicosapentanoic acid* (EPA).

Kerang laut dapat menjadi sumber alternatif asam lemak omega-3, omega-6, dan omega-9 serta menjadi sumber vitamin A, vitamin D, dan mineral (Gifari, 2011). Asam lemak bebas dan monogliserida telah lama dikenal memiliki aktivitas antibakteri dalam spektrum luas yang didasarkan pada perilaku litik terhadap selaput bakteri. Asam lemak bebas adalah jenis lipida antimikroba yang banyak dipelajari, dan terdiri dari kelompok asam karboksilat dan rantai karbon jenuh atau tidak jenuh (Jackman, *et al.* 2016). Jenis-jenis pelarut yang biasa digunakan untuk mengekstraksi sampel yang mengandung lemak salah satunya adalah n-heksan (Ariyani, *et al.* 2008).

*Streptococcus pyogenes* merupakan kelompok bakteri gram positif dan merupakan salah satu bakteri patogen yang paling sering menginfeksi manusia. *S. pyogenes* dapat ditemukan di saluran pernafasan (Arthasari, 2015). Bakteri *S. pyogenes* merupakan penyebab paling umum dari faringitis akut, juga menimbulkan gejala *sekuele* yang serius, seperti demam rematik akut dan glomerulonefritis akut (Aini, *et al.* 2016). Dengan digunakan antibiotik tetrasiklin sebagai kontrol positif, maka dipilihlah bakteri ini sebagai bakteri uji. Karena menurut Awanis dan Mutmainnah (2016), salah satu antibiotik yang masih sensitif terhadap *S. pyogenes* adalah *tetracycline*.

Contoh bakteri yang mencemari produk perikanan ialah bakteri *Salmonella typhi*. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri patogen yang sering menginfeksi manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi (Aulia, *et al.* 2015). *Salmonella typhi* (*S. typhi*) adalah salah satu bakteri gram negatif yang menyebabkan demam tifoid. Demam tifoid sangat endemik di Indonesia (Cita, 2011). Angka kejadian termasuk tertinggi di dunia yaitu antara 358-

810/100.000 penduduk setiap tahun. Penyakit ini mempunyai angka kematian yang cukup tinggi yaitu 1-5% dari penderita (Darmawati, 2009).

Penelitian mengenai aktivitas antibakteri pada kerang hijau hanya sebatas proses ekstraksi, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut hingga proses fraksinasi. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi kerang hijau sebagai alternatif pengobatan antibakteri alami pada *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah terdapat aktivitas antibakteri ekstrak kasar kerang hijau (*Perna viridis*) dengan pelarut n-heksan terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kasar kerang hijau (*Perna viridis*) dengan pelarut n-heksan terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*.

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang didasari dari penelitian ini adalah terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak kasar kerang hijau (*Perna viridis*) dengan pelarut n-heksan terhadap *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*.

## 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat dari kerang hijau (*Perna viridis*) sebagai antibakteri, sehingga dapat digunakan sebagai sumber antibakteri.

## 1.6 Waktu dan Tempat

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Maret - Mei 2017 di laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Biologi Sentral Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, dan Laboratorium Mineral dan Material Maju Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Menurut Cappenberg (2008), kerang hijau (*Perna viridis*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan ( <i>Kingdom</i> )	: Animalia
Filum ( <i>Phylum</i> )	: Moluska
Kelas ( <i>Class</i> )	: Bivalvia
Sub Kelas ( <i>Sub Class</i> )	: Lamellibranchiata
Bangsa ( <i>Ordo</i> )	: Anisomyria
Induk suku ( <i>Super family</i> )	: Mytilacea
Suku ( <i>Family</i> )	: Mytilidae
Anak suku ( <i>Sub family</i> )	: Mytilinae
Marga ( <i>Genus</i> )	: <i>Perna</i>
Jenis ( <i>Spesies</i> )	: <i>Perna viridis</i>

Secara morfologi, anggota famili Mytilidae mempunyai cangkang yang tipis, keduanya simetris dan umbonya melengkung ke depan. Persendiannya halus dengan beberapa gigi yang sangat kecil. *Perna viridis* dicirikan dengan bentuk yang agak pipih, cangkang padat, dan mempunyai umbo pada tepi vertikal. Tipe alur cangkangnya konsentrik, bersinar, berwarna hijau, dan kadang-kadang tepinya berwarna kebiruan. Kedua cangkangnya berukuran sama meskipun salah satu cangkang agak sedikit lebih cembung daripada yang lainnya (Cappenberg, 2008). Morfologi kerang hijau dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Habitat alami dari biota ini adalah di daerah litoral dan sublitoral hingga kedalaman 15 m yang kaya akan plankton dan kandungan organik. Kerang hijau umumnya hidup menempel pada dasar (substrat) yang keras seperti kayu, bambu, batu, bangunan beton, dan lumpur keras dengan bantuan *byssus* (serabut penempel). Kerang hijau dapat hidup subur di muara-muara sungai dan hutan-hutan bakau di Indonesia dengan kondisi dasar perairan lumpur berpasir, pergerakan air dan cahaya cukup serta kadar garam tidak terlalu tinggi (Kastoro,1982). Selain itu, kerang hijau juga hidup di daerah yang memiliki kandungan sedimen tersuspensinya rendah dengan pergerakan arus yang nyata. Makanan kerang hijau berupa fitoplankton, detritur, diatom, dan bahan organik lainnya yang terdapat di dalam air (Liliandari dan Aunurohim, 2013).

Kelimpahan kerang ini besar sekali di daerah intertidal dan subtidal, menempel secara bergerombol pada batu-batu karang, tanggul-tanggul pelabuhan dan tonggak-tonggak penangkapan. Dalam penyebarannya, kerang hijau dapat ditemukan di hampir seluruh benua Asia, karena hewan tersebut termasuk spesies spesifik benua tersebut. Kerang hijau dapat ditemukan di sepanjang wilayah Indo Pasifik, kemudian ke bagian utara hingga Hongkong, Cina, Selatan Jepang, perairan India, Semenanjung Malaysia, Singapura, Laut Cina Selatan, Thailand, Philipina, Indonesia sampai New Guinea. Kondisi perairan yang cocok untuk kehidupan kerang hijau adalah perairan dekat estuaria yang subur dan pantai dengan dasar berlumpur (Rahayu, 2014).

Menurut Eshmat, *et al.* (2014) kerang hijau merupakan salah satu jenis kerang yang digemari masyarakat, memiliki nilai ekonomis, dan kandungan gizi yang sangat baik untuk dikonsumsi, yaitu terdiri dari 40% air, 21,9% protein, 14,5% lemak, 18,5% karbohidrat, dan 4,3% abu. Daging kerang hijau sekitar 30% dari bobot total (daging dan cangkang), dalam 100 g daging kerang hijau mengandung 100 kalori yang tentunya sangat bermanfaat untuk daya tahan

tubuh manusia dan juga mengandung asam lemak omega-3 rantai panjang yang baik bagi kesehatan jantung. Hampir sama dengan penelitian Liliandari dan Aunurohim (2013) yang menyatakan bahwa, kerang hijau (*Perna viridis*) memiliki kandungan gizi yang tinggi untuk dikonsumsi yaitu terdiri dari 49,8% air, 21,9% protein, 14,5% lemak, 18,5% karbohidrat dan 4,3% abu.

Pati, *et al.* (2015) menerangkan bahwa, para ilmuwan dari lembaga pusat penelitian perikanan laut di India, telah mengisolasi bahan anti-inflamasi yang efektif dari kerang hijau (*Perna viridis*) dengan nama *Green Mussel Extract* (GMe) yang digunakan untuk mengembangkan Kadalmin TM untuk melawan penyakit arthritis. Menurut Datta, *et al.* (2015), dalam beberapa kasus, antivirus terutama senyawa inhibitor (zat yang menghambat) virus HIV diisolasi dari senyawa beberapa moluska khususnya pada kerang hijau (*Perna viridis*).

Senyawa aktif yang dihasilkan dari hewan laut dikenal sebagai metabolit sekunder. Senyawa tersebut antara lain steroid, terpenoid, isoprenoid, nonisoprenoid, kuinon, senyawa brominasi, heterosiklik sulfur nitrogen, turunan asam lemak, dan heterosiklik nitrogen. Senyawa-senyawa ini merupakan faktor pertahanan. Zat aktif yang terbentuk oleh organisme laut seperti protozoa dan invertebrata antara lain, porifera, cnidaria, annelida, arthropoda, moluska, dan echinodermata. Senyawa aktif tersebut memiliki aktivitas antimikroba, antijamur, anti-inflamasi, dan antikanker (Datta, *et al.* 2015).

## 2.2 Ekstraksi

Menurut Irvan, *et al.* (2015) sebelum pemilihan suatu metode perlu membuat atau menetapkan target dalam ekstraksi. Target yang diharapkan untuk didapatkan dengan dilakukannya ekstraksi di antaranya senyawa aktif yang belum diketahui, senyawa aktif yang diketahui dalam organisme, sekumpulan senyawa dalam organisme yang strukturnya serupa, seluruh metabolit sekunder

yang dihasilkan oleh satu sumber alam yang tidak dihasilkan melalui kondisi yang sama, dan lain sebagainya.

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan sampel dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel sampel. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Prinsip ekstraksi pada penelitian ini adalah melarutkan lemak dalam bahan dengan menggunakan pelarut organik yang mudah menguap. Pelarut yang biasanya digunakan adalah n-heksan. Prinsip dari ekstraksi adalah proses untuk memisahkan salah satu atau lebih komponen yang terkandung di dalam fase padatan dengan menggunakan fase pelarut yang sesuai. Keuntungan dari metode ekstraksi ini yaitu tidak membutuhkan suhu yang terlalu tinggi, dan hanya membutuhkan pelarut saja (Ariyani, *et al.* 2008).

### 2.3 Pelarut

Pelarut yang baik adalah pelarut yang tidak merusak solut atau residu, harganya relatif murah, memiliki titik didih rendah, murni, dan tidak berbahaya. Suatu zat dapat larut dalam pelarut jika mempunyai nilai polaritas yang sama, yaitu zat polar seperti garam meja dan gula/sukrosa larut dalam pelarut bersifat polar (seperti air), dan tidak larut dalam pelarut nonpolar (seperti n-heksana). Begitu pula sebaliknya, zat nonpolar (seperti minyak dan lilin) larut dalam pelarut nonpolar, dan tidak larut dalam pelarut polar. Perbandingan antara massa pelarut, dan massa padatan yang akan diekstrak juga harus tertentu untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang terbaik (Ariyani, *et al.* 2008).

Menurut Diana (2012), pelarut sangat mempengaruhi proses ekstraksi. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh faktor-faktor antara lain, (1) Selektivitas pelarut dapat melarutkan semua zat yang akan diekstrak dengan cepat dan sempurna. (2) Titik didih pelarut harus mempunyai titik didih yang cukup rendah sehingga pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi pada proses pemurnian dan jika diuapkan tidak tertinggal dalam minyak. (3) Pelarut tidak larut dalam air. (4) Pelarut bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain. (5) Pelarut mudah terbakar.

Jenis pelarut yang biasa digunakan untuk mengekstraksi sampel yang mengandung lemak adalah heksana. Yang cenderung lebih larut dalam air disebut memiliki sifat yang polar, dan sebaliknya yang cenderung larut dalam pelarut organik disebut nonpolar. Kelarutan senyawa dalam pelarut tergantung pada sifat polaritas senyawa dan pelarut tersebut. Bahan-bahan dari senyawa kimia akan mudah larut dalam bahan pelarut yang sama polaritasnya dengan bahan yang akan dilarutkan. Tingkat polaritas suatu senyawa dapat ditunjukkan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum suatu bahan

*solvent*. Semakin besar konstanta dielektrikum suatu bahan pelarut disebut semakin polar (Ariyani, *et al.* 2008).

### 2.3.1 N-Heksan

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksan. Menurut Rohaeti dan Senam (2010), karena kadar lemak yang terdapat dalam sampel kurang dari 25% maka cara terbaik untuk mengekstraksinya adalah menggunakan pelarut yang mudah menguap seperti n-heksan.

N-heksan adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Awalan *heks-* merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran *-ana* berasal dari *alkana*, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Harbone, 1987). Sifat fisik dan kimia pelarut n-heksan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisik dan Kimia Pelarut N-Heksan

Karakteristik	Syarat
Titik didih	68,5°C
Titik leleh	-95,3°C
Densitas	0,66 g/cm <sup>3</sup>
Warna	Bening
Kelarutan	- Tidak larut dalam air - Larut dalam pelarut organik - Sangat larut dalam alkohol

Sumber: (Ariyani, *et al.* 2008)

### 2.3.2 Tetrasiklin

Tetrasiklin merupakan antibiotik berspektrum luas yang dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Tetrasiklin diproduksi oleh *Streptomyces spp.* Antibiotik yang paling umum digunakan adalah oksitetrasiklin (*Terramycin*), klortetrasiklin (*Aureomycin*), dan tetrasiklin. Tetrasiklin dinamakan

sesuai 4 cincin hidrokarbon dengan rumus kimia  $C_{22}H_{24}N_2O_8$  senyawa kristal berwarna kuning dan sedikit larut dalam air tetapi larut dalam pelarut golongan alkohol (Suryani, 2016).

Antibiotik yang masih sensitif terhadap *Streptococcus pyogenes* salah satunya adalah tetrasiklin (Awanis dan Mutmainnah, 2016). Tingkat resistensi strain bakteri *Salmonella* spp. terhadap antibiotik juga telah berkembang dalam beberapa tahun terakhir, terutama terhadap antibiotik jenis tetrasiklin (Aulia, *et al.* 2015).

Antibiotik dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lain. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut bakteriostatik. Tingkat resistensi strain bakteri terhadap antibiotik tidak berkembang beberapa tahun terakhir, terutama terhadap antibiotik jenis tetrasiklin (Aulia, *et al.* 2015). Penentuan tingkat resistensi bakteri terhadap antibiotik dicocokkan sesuai dengan tabel standar sensitifitas antibiotik yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Standar Sensitivitas Antibiotik

No.	Jenis Antibiotik	Dosis Cakram ( $\mu\text{g}$ )
1.	<i>Amoxicillin-clavulanic</i>	20
2.	<i>Ciprofloxacin</i>	5
3.	<i>Gentamycin</i>	10
4.	<i>Tetracycline</i>	30
5.	<i>Chloramphenicol</i>	30
6.	<i>Streptomycin</i>	10
7.	<i>Doxycycline</i>	30
8.	<i>Nalidixic-acid</i>	30
9.	<i>Erythromycin</i>	15
10.	<i>Oxytetracycline</i>	30

Sumber: (Aulia, *et al.* 2015)

### 2.3.3 DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*)

Pelarut DMSO merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal. Selain itu, pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun nonpolar adalah *dimethyl sulfoxide* (DMSO). DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. DMSO juga tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri (Nur, *et al.* 2015).

DMSO dengan rumus kimia (CH<sub>3</sub>-S(=O)-CH<sub>3</sub>) merupakan jenis pelarut aprotik yaitu memiliki gugus yang terdiri dari dua atom dengan perbedaan keelektronegatifan yang besar. Selain itu DMSO juga tidak memiliki ikatan O-H dalam molekulnya. Namun molekul pelarutnya masih memiliki gugus-gugus yang bersifat polar (Fajar, 2008). Pada penelitian Amalia, *et al.* (2014) digunakan DMSO 10% sebagai kontrol negatif, cara pembuatannya yaitu dengan melarutkan 1 mL DMSO 10% dalam 10 mL aquades.

## 2.4 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Simon, 2012).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya

bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1988).

Berdasarkan daya menghambat atau membunuhnya, antibakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit (*narrow spectrum*) dan berspektrum luas (*broad spectrum*). Antibakteri yang berspektrum sempit yaitu antibakteri yang hanya dapat bekerja terhadap bakteri tertentu saja, misalnya hanya terhadap bakteri gram positif saja atau gram negatif saja. Antibakteri yang berspektrum luas dapat bekerja baik pada bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif. Metode pengujian aktivitas antimikroba memanfaatkan mikroorganisme sebagai penentu konsentrasi komponen tertentu pada campuran kompleks kimia untuk mendiagnosis potensi mutagenik atau karsinogenik pada suatu bahan, sehingga pada pengujian antimikroba dapat diukur pertumbuhan mikroorganisme terhadap agen antimikroba (Rahayu, 2014).

#### **2.4.1 Asam Lemak sebagai Antibakteri**

Asam lemak merupakan asam organik berantai panjang yang mempunyai gugus karboksil (COOH) di salah satu ujungnya dan gugus metil (CH<sub>3</sub>) di ujung lainnya. Asam lemak dibedakan menjadi asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh (EPA dan DHA) yang terkandung pada berbagai jenis kerang tergolong tinggi. Asam lemak memiliki fungsi yang penting bagi tubuh manusia, antara lain linoleat (omega-6) dan linolenat (omega-3) yang digunakan untuk menjaga bagian-bagian struktural dari membran sel, serta mempunyai peranan penting dalam perkembangan otak. Asam lemak omega-3 dapat menyembuhkan aterosklerosis, mencegah kanker, diabetes, dan memperkuat sistem kekebalan tubuh. Asam linolenat memiliki turunan *eikosapentaenoat* (EPA) dan *dokosaheksaenoat* (DHA) yang sangat dibutuhkan

oleh tubuh manusia karena memiliki beberapa manfaat yaitu dapat mencerdaskan otak, membantu masa pertumbuhan, dan menurunkan kadar trigliserida (Abdullah, *et al.* 2013).

Ada dua jenis utama molekul inang yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri yaitu peptida antimikroba dan lipid antimikroba (Drake, *et al.* 2008). Asam lemak bebas dan monogliserida telah lama dikenal memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas yang didasarkan pada perilaku litik terhadap membran sel bakteri. Lipid antimikroba pertama kali dikenali sebagai komponen sistem kekebalan bawaan tubuh manusia. Asam lemak bebas adalah jenis lipid antimikroba yang dipelajari secara luas, dan terdiri dari kelompok asam karboksilat dan rantai karbon jenuh atau tak jenuh. Mereka berfungsi sebagai surfaktan ringan yang mengganggu membran sel bakteri, menyebabkan efek bakteristatik atau bakterisidal. Dengan demikian, ada beberapa cara dimana asam lemak mempengaruhi membran sel bakteri. Akibatnya, ada daya hambat yang tinggi terhadap strain bakteri yang mengembangkan mutasi resistansi. Berbagai lipida antimikroba telah ditemukan atau disintesis, dan memiliki spektrum sebagai target antibakteri (Jackman, *et al.* 2016).

Lipid antimikroba mengganggu membran sel bakteri, dan menyebabkan lisis sel atau berbagai efek tidak langsung yang menghambat metabolisme sel. Hubungan fungsi struktur telah menunjukkan bahwa aktivitas bakterisidal yang optimal diperoleh dengan lipid antimikroba jenuh dengan 10 atau 12 karbon asam lemak rantai panjang seperti asam laurat, yang telah berhasil menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap berbagai macam patogen yang relevan secara klinis. Lipid antimikroba dengan panjang rantai yang sama (10 sampai 14 karbon) juga menunjukkan aktivitas antimikroba yang efektif. Asam lemak tak jenuh lainnya seperti asam linoleat, asam linolenat, dan asam oleat telah menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat pula (Jackman, *et al.* 2016).

Menurut Murhadi (2009), secara umum asam lemak jenuh yang paling aktif sebagai senyawa antibakteri adalah asam laurat (12:0), sedangkan untuk asam lemak tidak jenuh tunggal dan asam lemak tidak jenuh ganda/jamak, masing-masing adalah asam palmitoleat (16:1) dan asam linoleat (18:3). Letak dan jumlah ikatan rangkap pada asam lemak  $C_{12}$ - $C_{22}$ , lebih mempengaruhi aktivitas antibakteri asam lemak tersebut dibandingkan pada asam lemak dengan jumlah atom C kurang dari 12. Konfigurasi geometri struktur asam lemak yang aktif (antimikroba) adalah bentuk *cis*, sementara bentuk isomer *trans* tidak aktif.

Menurut Datta, *et al.* (2015) asam lemak bebas, trigliserida, karotenoid, dan lemak lainnya, dan komponen lainnya dilaporkan dapat bertindak dalam pencegahan aktivitas kanker. Karotenoid dan asam lemak tak jenuh ganda telah dipelajari secara ekstensif untuk kemoterapi, baik dalam penelitian *in vivo* maupun *in vitro*. Mekanisme kerja mereka bergantung pada struktur kimia lemak dan mencakup aktivitas antioksidan, antimutagenik, dan antiinflamasi. Senyawa-senyawa tersebut antara lain *Astaxhantin esters*,  *$\beta$ -criptoxanthin*,  *$\alpha$ -carotene*,  *$\beta$ -carotene*, *meso-zeaxanthin*, *canthaxanthin*, *lutein*, *zeaxanthin*, and *crustacyanin*.

Sifat bakterisidal dan antijamur dari asam lemak sudah banyak diketahui. Asam lemak telah dilaporkan memiliki sifat antimikroba melawan bakteri gram negatif, meskipun jauh lebih rendah daripada yang ditunjukkan pada bakteri gram positif. Ada hubungan erat antara struktur asam lemak dan kemampuannya sebagai agen antimikroba. Ringkasnya efek struktur pada asam lemak bertindak sebagai antibakteri menunjukkan yang paling banyak adalah lemak jenuh, tak jenuh tunggal, dan asam lemak tak jenuh ganda yang memiliki panjang rantai masing-masing  $C_{12}$ ,  $C_{16:1}$  dan  $C_{18:2}$ . Jumlah dan posisi ikatan rangkap lebih penting untuk asam lemak lebih dari 12 karbon daripada untuk asam lemak dengan karbon lebih sedikit. Bakteri gram positif lebih rentan terhadap asam lemak daripada bakteri gram negatif. Bakteri gram positif lebih

banyak dipengaruhi oleh panjang rantai yang sedikit lebih panjang. Organisme gram negatif sangat terpengaruh rantai asam lemak, yaitu C6 atau kurang. Asam lemak dengan lebih dari delapan karbon tidak menghambat bakteri gram negatif. Asam lemak menghambat pertumbuhan dan konsumsi oksigen bakteri dalam media hara dengan menghambat pengangkutan zat seperti asam amino dan asam keto melalui membran seluler. Efektivitas penghambatan meningkat dengan bertambahnya panjang rantai. Lipid membunuh bakteri dengan gangguan membran sel mereka (terlihat dengan mikroskop elektron), dan karena tindakan lipid ini pada membran biologis, tidak memungkinkan kemunculan perlawanan (McGaw, *et al.* 2012).

McGaw, *et al.* (2012) menguji sepuluh asam lemak dan metilnya. Mereka menemukan asam palmitat (C16: 0), asam stearat (C18: 0) dan asam oleat (C18: 1) tidak memiliki aktivitas, tapi asam lemak dengan dua atau lebih ikatan rangkap (dimulai dengan C18: 2) aktif. Dari lemak tak jenuh ganda asam yang diuji, aktivitas asam  $\gamma$ -linolenat (C18: 3) adalah yang tertinggi. Dan asam  $\alpha$ -linolenat (C18: 3), *eicosapentaenoic acid* (C20: 5), dan *docosahexaenoic acid* (C22: 6) juga memiliki aktivitas kuat.

Asam lemak omega-3 merupakan asam lemak tidak jenuh yang kaya akan ikatan rangkap yakni mempunyai ikatan rangkap 3 dalam struktur molekulnya, yang mempunyai peranan positif pada kesehatan manusia antara lain dapat menurunkan kadar kolesterol, membantu perkembangan syaraf pada bayi, menyembuhkan dan mencegah penyakit kardiovaskuler. Sedangkan untuk spesiesnya sendiri asam lemak omega-3 ini termasuk asam lemak esensial dibutuhkan tubuh antara lain untuk pembentukan membran, osmoregulasi, sintesis prostaglandin dan juga berperan aktif dalam sistem imunitas. Umumnya organisme laut kaya akan asam lemak tidak jenuh ganda (Supriyantini, 2007).

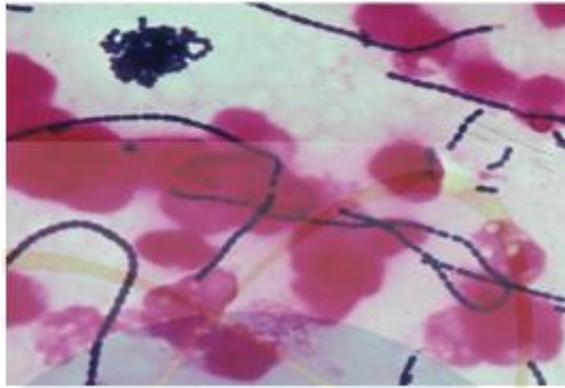
## 2.4.2 Bakteri Uji

### – *Streptococcus pyogenes*

*Streptococcus pyogenes* merupakan kelompok besar patogen manusia yang berhubungan dengan invasi local atau sistemik dan termasuk kelompok gram positif yang paling sering menginfeksi manusia (Arthasari, 2015). Bakteri yang tumbuh di agar darah ini berbentuk kokus dan tersusun menjadi rantai, mempunyai ukuran 0,5 mm. Bakteri *Streptococcus pyogenes* merupakan flora normal yang bisa ditemukan di tenggorokan dan kulit sehingga dapat menyebabkan faringitis (Rochmawati, et al. 2015).

*Streptococcus pyogenes* khasnya berpasangan atau membentuk rantai selama pertumbuhan. *Streptococcus pyogenes* merupakan spesies dari *Streptococcus* yang merupakan bakteri pada saluran pernafasan dan infeksi terjadi ketika pertahanan terganggu atau ketika organisme mampu menembus pertahanan konstitutif (Awanis dan Mutmainnah, 2016).

*Carrier* bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat ditemukan di saluran pernafasan, kadang tidak menimbulkan penyakit akan tetapi dapat berisiko untuk menyebarkan penyakit. *Streptococcus pyogenes* menyebar saat seseorang yang terinfeksi bakteri atau *carrier* tersebut batuk atau bersin (*drop infection*) dan masuk ke membran mukosa orang lain. Lokasi yang ramai dan padat seperti sekolah, tempat penampungan anak dan perumahan kumuh akan meningkatkan kemungkinan penularan antar individu (Aini, et al. 2016). Morfologi bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat dilihat pada Gambar 2.



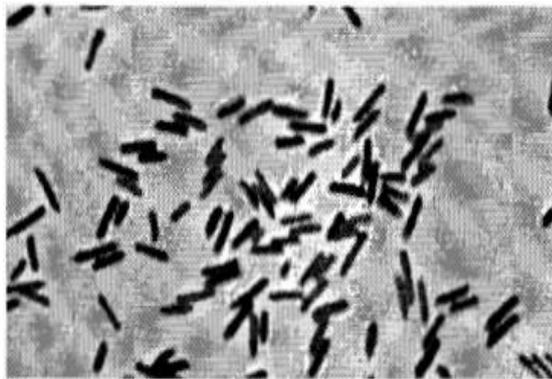
Gambar 2. *Streptococcus pyogenes* (Rahman, 2014)

– ***Salmonella typhi***

Salah satu contoh bakteri yang mencemari produk perikanan ialah bakteri *Salmonella typhi*. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri patogen yang sering menginfeksi manusia melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. Bakteri ini bertanggung jawab atas lebih dari 40.000 kasus penyakit yang berhubungan dengan makanan setiap tahun (Aulia, *et al.* 2015). *Salmonella typhi* merupakan bakteri batang gram negatif, yang tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik, bersifat intraseluler fakultatif dan anaerob fakultatif. Ukurannya berkisar antara 0,7-1,5 x 2-5  $\mu\text{m}$ , memiliki antigen somatik, antigen flagel dengan 2 fase dan antigen kapsul. *S. typhi* mampu bertahan hidup selama beberapa bulan sampai setahun jika melekat dalam tinja, mentega, susu, keju, dan air beku. *S. typhi* dapat hidup dalam makrofag dan menyebabkan gejala-gejala gastrointestinal hanya pada akhir perjalanan penyakit, biasanya sesudah demam yang lama, bakteremia, dan akhirnya lokalisasi infeksi dalam jaringan limfoid submukosa usus kecil (Cita, 2011).

Demam *typhoid* adalah penyakit demam akut yang disebabkan oleh bakteri *S. typhi*. Penyakit ini khusus menyerang manusia, bakteri ini ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh kotoran atau tinja dari seseorang pengidap atau penderita demam *typhoid*. Bakteri ini masuk melalui

mulut dan hanyut ke saluran pencernaan. Apabila bakteri masuk ke dalam tubuh manusia, tubuh akan berusaha untuk mengeliminasinya. Tetapi bila bakteri dapat bertahan dan jumlah yang masuk cukup banyak, maka bakteri akan berhasil mencapai usus halus dan berusaha masuk ke dalam tubuh yang akhirnya dapat merangsang sel darah putih untuk menghasilkan interleukin dan merangsang terjadinya gejala demam, perasaan lemah, sakit kepala, nafsu makan berkurang, sakit perut, gangguan buang air besar serta gejala lainnya. *S. typhi* dapat menyebabkan gastroenteritis (keracunan makanan) dan septicemia. Penyakit ini dianggap serius karena dapat disertai berbagai penyakit, kejadian demam *typhoid* telah diperburuk dengan terjadinya peningkatan resistensi bakteri terhadap banyak antibiotik (Darmawanti, 2009). Morfologi bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Salmonella typhi* (Cita, 2011)

## 2.6 Uji Cakram

Menurut Aulia, *et al.* (2015), metode uji aktivitas bakteri terhadap antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Kelebihan dari metode ini adalah karena mudah, cepat, dan efisien karena dapat menggunakan beberapa jenis antibakteri dalam satu cawan petri. Resistensi atau

sensitivitas dari bakteri patogen yang digunakan dalam uji antibakteri dapat diketahui dengan metode difusi cakram.

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> CFU/mL (Hermawan, *et al.* 2007).

Aktivitas antibakteri dapat dilihat dengan mengamati zona hambatan yang terbentuk di sekeliling *paper disc*. Antibakteri dikatakan positif apabila terbentuk zona hambatan berupa zona bening disekeliling *paper disc* dan antibakteri negatif ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening (Pebrian, 2010). Penentuan aktivitas antibakteri dengan pelarut n-heksan dilakukan dengan metode *disc diffusion* Kirby-Bauer yaitu penentuan sensitivitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang kemungkinan memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan cakram kertas (Amalia, *et al.* 2014).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Awanis dan Mutmainnah, 2016).

Proses difusi bekerja ketika kertas cakram antibiotik ditempatkan diatas media *Mueller Hinton Agar* (MHA), dengan proses difusi dimulai dari kertas cakram ke dalam agar. Kelarutan senyawa di dalam agar akan menentukan

ukuran area resapan senyawa antibiotik di sekitar cakram atau yang disebut dengan zona hambat. Terbentuknya zona hambat dalam agar MHA menunjukkan bahwa senyawa antibiotik mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Aulia, *et al.* 2015). Kategori diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kategori Zona Hambat

Daya Hambat Bakteri	Kategori
$\geq 20$ mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
$\leq 5$ mm	Lemah

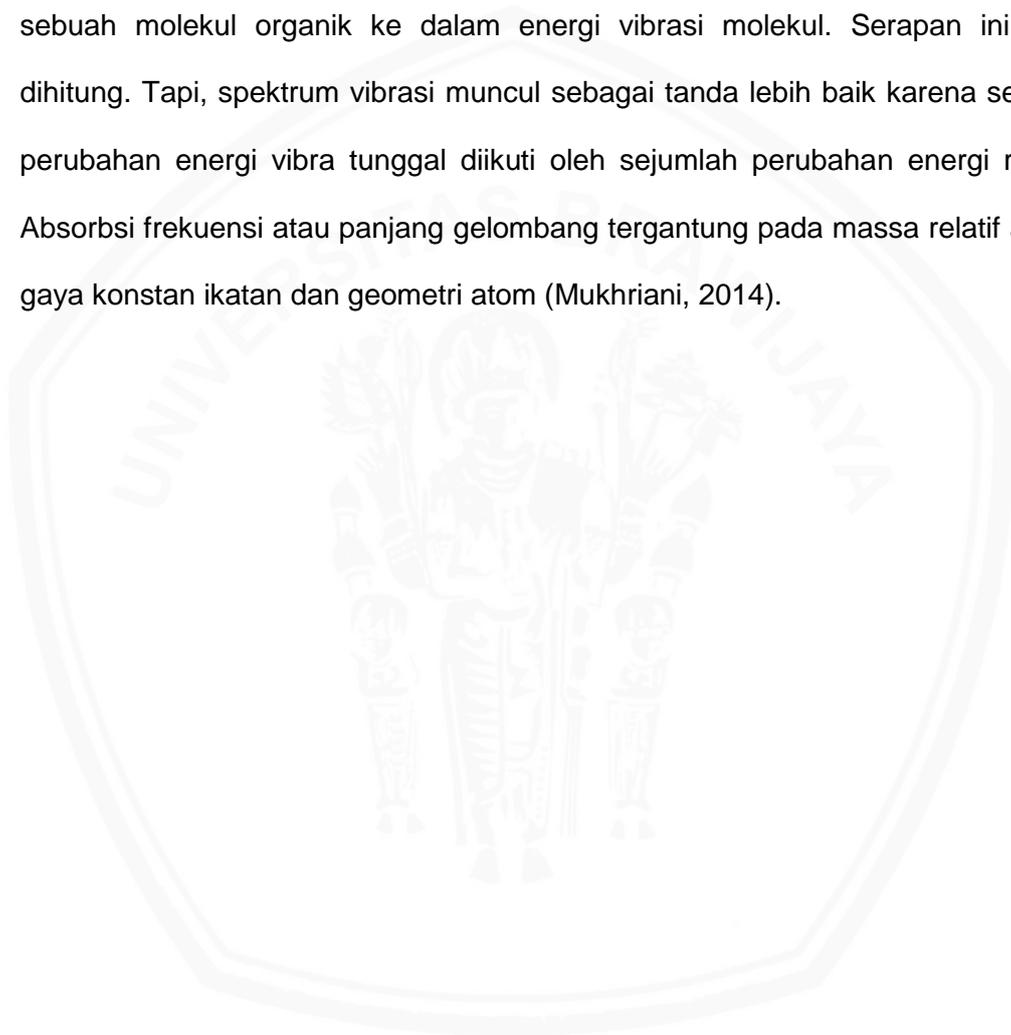
Sumber: (Aulia, *et al.* 2015)

## 2.7 Spektrofotometri FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Rasyida, *et al.* (2014) menjelaskan bahwa Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) adalah salah satu instrumen yang dapat digunakan untuk identifikasi senyawa kimia secara kualitatif dan mulai dikembangkan untuk identifikasi secara kuantitatif. FTIR memiliki kemampuan yang cepat dalam menganalisis, bersifat tidak merusak, dan hanya dibutuhkan preparasi sampel yang sederhana. FTIR digunakan untuk identifikasi adanya gugus fungsional seperti hidroksil, aromatik, karbonil, dan sebagainya.

Inti spektrofotometri FTIR adalah *interferometer Michelson* yaitu suatu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Spektrum inframerah tersebut dihasilkan dari pentransmisiian cahaya yang melewati sampel, pengukuran intensitas cahaya dengan detektor dan dibandingkan dengan intensitas tanpa sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Spektrum inframerah yang diperoleh kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang ( $\mu\text{m}$ ) atau bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) (Anam, *et al.* 2007).

FTIR merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik antara daerah gelombang cahaya tampak dan gelombang mikrowafe. Penggunaan terbesar terhadap kimia organik adalah pada panjang gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Frekuensi radiasi *infrared* (IR) kurang dari 100  $\text{cm}^{-1}$  diabsorpsi dan diubah oleh molekul organik menjadi energi rotasi molekul serapan ini diukur. Radiasi IR dalam daerah panjang gelombang 10000-100  $\text{cm}^{-1}$  diabsorpsi dan diubah oleh sebuah molekul organik ke dalam energi vibrasi molekul. Serapan ini juga dihitung. Tapi, spektrum vibrasi muncul sebagai tanda lebih baik karena sebuah perubahan energi vibra tunggal diikuti oleh sejumlah perubahan energi rotasi. Absorpsi frekuensi atau panjang gelombang tergantung pada massa relatif atom, gaya konstan ikatan dan geometri atom (Mukhriani, 2014).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kerang hijau yang didapat dari Pantai Utara Jakarta. Kerang dimasukkan ke dalam plastik kemudian dimasukkan kedalam *coolbox* lalu diberi es curah dan *coolbox* ditutup dengan lakban untuk mempertahankan suhu rendah selama transportasi dan kerang tetap segar sampai ditempat tujuan.

Bahan-bahan lain yaitu biakan murni bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi* yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang, n-heksan p.a, MHA (*Mueller Hinton Agar*), NB (*Nutrient Broth*), DMSO (*Dimetil sulfoksida*), kertas cakram (*blank disk*) dengan diameter 6 mm, kertas saring *whattman* no. 42, antibiotik tetrasiklin, alkohol 70%, *cotton swab* steril, akuades, aluminium foil, kapas, kertas label.

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Adapun alat alat yang digunakan dalam maserasi adalah corong, botol plastik, gelas ukur 100 ml, spatula, *rotary vacuum evaporator* merek *Buchi*, neraca analitik dan botol vial. Peralatan yang digunakan untuk uji cakram yaitu autoklaf, *laminar air flow*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikro pipet, jarum ose, cawan petri, *waterbath*, inkubator, pinset, *triangle*, bunsen, *vortex mixer*, korek api, dan jangka sorong atau penggaris, spektrofotometri UV-VIS. Alat-alat untuk identifikasi dugaan gugus yang berperan sebagai antibakteri yaitu *Fourier Transform Infrared Spectrometer*.

### 3.2 Metode Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Menurut Jaedun (2011), pada umumnya merupakan penelitian yang bersifat laboris. Selain itu, metode eksperimen digunakan untuk menentukan variabel apa saja dan bagaimana bentuk hubungan antara satu dengan yang lainnya. Metode eksperimen dapat menentukan pengaruh variabel bebas dan variabel terikat.

Adapun variabel bebas dan variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- Variabel bebas: pelarut dan konsentrasi kerang hijau sebagai antibakteri.
- Variabel terikat: bakteri target untuk uji antibakteri pada kerang hijau adalah *Salmonella typhi* dan *Streptococcus pyogenes*, uji daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Streptococcus pyogenes*, dan uji FTIR.

Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi ekstraksi kerang hijau (*Perna viridis*) dengan metode maserasi menggunakan pelarut n-heksan dan perhitungan rendemen. Sedangkan penelitian utama adalah uji aktivitas antibakteri dengan metode cakram, dan identifikasi senyawa kimia dalam ekstrak kasar sampel dengan uji FTIR.

#### 3.2.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 7 perlakuan (ekstrak kerang hijau dengan pelarut n-heksan dengan konsentrasi 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm, 8000 ppm, kontrol positif menggunakan tetrasiklin, kontrol negatif menggunakan DMSO 10%, dan pelarut n-heksan) (Kuspradini, *et al.* 2016).

Untuk mengetahui banyaknya pengulangan dalam penelitian ini digunakan rumus *federer* (Atma, 2016):

$$\begin{aligned} (n-1)(t-1) &\geq 15 \\ (n-1)(6-1) &\geq 15 \\ (n-1)(5) &\geq 15 \\ (5n-5) &\geq 15 \\ 5n &\geq 20 \\ n &\geq 4 \end{aligned}$$

Keterangan:

n = banyaknya sampel (pengulangan)

t = banyaknya perlakuan

Berdasarkan rumus diatas maka banyaknya pengulangan adalah 4 ulangan. Adapun rancangan penelitian pendahuluan dan utama untuk uji antibakteri dengan cakram dapat dilihat dalam Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan Acak Lengkap (RAL) Uji Daya Hambat

Perlakuan		Ulangan ke- 1	Ulangan ke- 2	Ulangan ke- 3	Ulangan ke-4
Penggunaan Konsentrasi Ekstrak	1000 ppm	A1a1	A1a2	A1a3	A1a4
	2000 ppm	A2a1	A2a2	A2a3	A2a4
	4000 ppm	A3a1	A3a2	A3a3	A3a4
	8000 ppm	A4a1	A4a2	A4a3	A4a4
Kontrol Positif (Tetrasiklin)		B1b1	B1b2	B1b3	B1b4
Kontrol Negatif (pelarut DMSO 10%)		C1c1	C1c2	C1c3	C1c3
Pelarut N-heksan		D1d1	D1d2	D1d3	D1d4

Keterangan perlakuan:

A1a1 = Konsentrasi ekstrak n-heksan 1000 ppm

A2a1 = Konsentrasi ekstrak n-heksan 2000 ppm

A3a1 = Konsentrasi ekstrak n-heksan 4000 ppm

A4a1 = Konsentrasi ekstrak n-heksan 8000 ppm

B1b1 = Kontrol tetrasiklin

C1c1 = Kontrol DMSO 10%

D1d1= Pelarut n-heksan



### 3.3 Penelitian Pendahuluan

#### 3.3.1 Ekstraksi Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Tahapan awal proses ekstraksi kerang hijau yaitu sampel dibersihkan dari kotoran kemudian dilepaskan dari cangkangnya, diambil dagingnya lalu dicuci bersih kemudian dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang sebanyak 300 g. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yaitu merendam kerang hijau dengan pelarut n-heksan p.a sebanyak 600 g (perbandingan 1:2 (b/v)) dalam botol kaca steril lalu ditutup dengan aluminium foil. Maserasi dilakukan selama 2 x 24 jam pada suhu kamar (Hasan, *et al.* 2014).

Hasil maserasi selanjutnya disaring dengan kertas saring *whattman* no. 42 sehingga didapatkan filtrat dan residu. Filtrat selanjutnya diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai n-heksan menguap dan diperoleh ekstrak kasar n-heksan. Hasil ekstrak kasar dimasukkan dalam botol vial steril untuk mencegah kontaminasi kemudian ditimbang lalu disimpan dalam lemari pendingin untuk dievaporasi (Pebrian, 2010).

#### 3.3.2 Rendemen

Setelah didapatkan berat awal dan berat akhir hasil evaporasi, maka dilakukan perhitungan persentase rendemen ekstrak sampel. Adapun perumusan matematika adalah sebagai berikut:

$$\frac{\text{Berat akhir ekstrak}}{\text{Berat awal bahan}} \times 100\%$$

### 3.4 Penelitian Utama

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap ekstrak kerang hijau (*Perna viridis*) Uji ini meliputi persiapan media cair, media padat, persiapan suspensi bakteri, pembuatan konsentrasi ekstrak uji, kontrol positif, dan kontrol negatif.

Bakteri uji yang digunakan adalah *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*). Tahap awal yang dilakukan adalah menyeterilkan alat-alat dalam pengujian aktivitas antibakteri. Alat-alat disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, pinset dibakar dengan pembakaran di atas bunsen dan media disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pebrian, 2010).

#### **3.4.1 Pembuatan Media Agar Miring untuk Peremajaan Bakteri**

Serbuk media *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 2,16 gram dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam erlenmeyer dan dipanaskan hingga larut. Lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 mL dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu steril tabung dimiringkan sampai kemiringan 45° dan didiamkan hingga membentuk agar miring. Sebanyak 1 ose bakteri uji digoreskan pada media agar miring setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Pebrian, 2010).

#### **3.4.2 Pembuatan Media Cair (NB)**

Media NB bubuk ditimbang sebanyak 1,4 gr dan dilarutkan dalam 100 mL akuades, selanjutnya dipanaskan hingga mendidih dengan *hot plate stirer*. NB dipipet sebanyak 9 mL ke dalam tabung reaksi dan masing-masing ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu media didinginkan di tempat yang steril pada suhu ruang (Chandran, *et al.* 2009).

### 3.4.3 Persiapan Suspensi Bakteri

Sebanyak 3-4 ose biakan bakteri hasil peremajaan pada media NA miring diinokulasikan ke dalam media cair NB steril yang telah dingin aseptik. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diukur kekeruhannya secara turbidimetri dengan menggunakan spektrofotometri UV VIS dengan panjang gelombang 625 nm ( $OD_{625}$ ) dan disesuaikan dengan standar kekeruhan Mc Farland ( $1 \times 10^8$  CFU/mL) (Fatimah, *et al.* 2006).

### 3.4.4 Pembuatan Media Padat (MHA)

Media padat yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri adalah media *Mueller Hinton Agar* (MHA). MHA ditimbang sebanyak 24,48 gr lalu dilarutkan dalam 560 mL akuades pada *beaker glass* 1000 mL. Kemudian dipanaskan pada *hot plate stirer* sampai mendidih, selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Aulia, *et al.* 2015).

### 3.4.5 Konsentrasi Ekstrak Uji, Kontrol Positif, Kontrol Negatif, dan Kontrol Pelarut

Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak uji yaitu 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm, 8000 ppm, dengan pelarut kontrol negatif yaitu *dimetilsulfoksida* (DMSO 10%), sedangkan kontrol positif menggunakan tetrasiklin 30 ppm. Digunakan konsentrasi yang berbeda bertujuan untuk menyatakan komposisi larutan secara kuantitatif (Marhamah, 2014). Penelitian Kuspradini, *et al.* (2016) menyatakan bahwasanya dengan 5000 ppm saja dapat digunakan sebagai acuan konsentrasi pada aktivitas antibakteri sehingga dapat menimbulkan zona hambat. Menurut Aulia, *et al.* (2015) kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik tetrasiklin dengan konsentrasi 30 ppm. Sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan pelarut DMSO 10%, sebanyak 1 mL DMSO

10% dilarutkan dalam aquades hingga volume 10 mL. Sedangkan berdasarkan penelitian Manullang, *et al.* (2016) n-heksan yang digunakan sebanyak 1 mL.

#### **3.4.6 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram**

Bakteri uji yang telah diinokulasi pada media cair NB divorteks, kemudian suspensi bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 1 mL, kemudian ditambah 20 mL media MHA steril ke dalam cawan petri tersebut. Lalu cawan petri dihomogenkan dengan cara digoyangkan membentuk angka 8. Didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit sampai agar memadat (Kiran, *et al.* 2014). Setelah agar memadat, cawan petri ditandai dengan cara membuat diagram untuk 7 bagian (1 cawan untuk 4 bagian larutan ekstrak masing-masing 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm dan 8000 ppm; 1 cawan lainnya untuk 3 bagian perlakuan kontrol positif, kontrol negatif, dan pelarut n-heksan). Kertas cakram steril direndam dalam masing-masing konsentrasi ekstrak kerang hijau, tetrasiklin, DMSO 10%, dan pelarut n-heksan (Marhamah, 2014).

Kemudian kertas cakram yang sudah direndam dalam pelarut diletakkan dalam cawan petri yang berisi media dan bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengukuran aktivitas antibakteri yang ditentukan dengan mengukur zona hambatan (dalam milimeter) yang ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Diukur menggunakan jangka sorong zona hambat dengan cara diameter zona bening dikurangi diameter kertas cakram (Marhamah, 2014).

#### **3.4.7 Uji Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR)**

Uji FTIR dilakukan di Laboratorium Mineral dan Material Maju Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Malang. Uji spektroskopi FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsional dari senyawa aktif yang

terdapat dalam kerang hijau (*Perna viridis*). Alat ini terdiri dari *spektrofotometer infrared* dilengkapi dengan transformasi *fourier* untuk mendeteksi dan menganalisa senyawa.

Menurut Anam, *et al.* (2007) spektrum *infrared* yang dihasilkan dari pentransmisian cahaya yang melewati sampel. Dilanjutkan dalam penelitian spektrum *infrared* kemudian di plot sebagai intensitas fungsi energi panjang gelombang  $\mu\text{m}$  atau bilangan gelombang  $\text{cm}^{-1}$ . Analisis gugus sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorbansi yang terbentuk pada spektrum *infrared* menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding yang diketahui.

#### 3.4.8 Analisa Data

Pengolahan data dalam hasil penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur dengan menggunakan *software SPSS 20.0* dan analisa data menggunakan ANOVA dengan selang kepercayaan 95%, apabila berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut *Tukey*.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Rendemen

Nilai rendemen yang didapat dari ekstrak kerang hijau dengan pelarut n-heksan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Rendemen Ekstrak Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Berat Awal (gr)	Berat Akhir Ekstrak (gr)	% Rendemen
301,57	10,2	3,38%

Hasil rendemen dari sampel ekstrak *Perna viridis* dalam bentuk *crude* yaitu 3,38%. Rendemen ekstrak *Perna viridis* didapatkan dari berat sampel yang akan dimaserasi yaitu sebanyak 301,57 gr dan berat sampel hasil evaporasi ekstrak adalah 10,2 gr. Hal ini menunjukkan sampel *Perna viridis* memiliki rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Pebrian (2010), yang menyatakan bahwa hasil rendemen ekstrak kasar dengan pelarut n-heksan sebesar 0,001%. Jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis pelarut, tingkat kepolaran pelarut, dan lama maserasi. Menurut Hidayati, *et al.* (2017) menyatakan bahwa perbedaan jumlah rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ukuran simplisia, jenis pelarut, tingkat kepolaran pelarut, dan lama maserasi. Ramasamy, *et al.* (2011) menambahkan bahwa tingkat kepolaran pelarut yang digunakan mempengaruhi tingkat kelarutan suatu senyawa bahan yang diekstraksi ke dalam pelarut. Jenis dan tingkat kepolaran pelarut menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstrak dari bahan.

Rendemen ekstrak akan cenderung meningkat dengan semakin meningkatnya rasio bahan pelarut yang digunakan.

#### 4.2 Kandungan Asam Lemak pada Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Berdasarkan penelitian Thilaga, *et al.* (2014) asam lemak merupakan indikator biokimia yang sangat penting dari bivalvia yang berkontribusi pada kualitas nutrisinya. Dan didapatkan hasil adanya aktivitas antibakteri pada bivalvia yaitu senyawa asam linolenat (*cancer preventive, anti-inflammatory, hepatoprotective, nematocide, antihistamic, hypocholesterolemic, antiarthritic, antiacne, 5-alpha reductase inhibitor insectifuge*).

Kandungan lemak dan asam lemak dalam jaringan lunak kerang hijau (*Perna viridis*) pada spesies yang tersebar luas di daerah tropis dan subtropis telah banyak diteliti. Kandungan lemak total dan lemak netral masing-masing adalah  $6,17 \pm 0,71$  dan  $2,71 \pm 0,42$  mg per 100 mg. Kandungan *docosahexaenoic acid* (DHA, C22:6n-3) adalah  $24,38 \pm 2,50$  mg/g sedangkan *eicosapentaenoic acid* (EPA, C20:5n-3) adalah  $12,29 \pm 2,12$  mg/g. Kedua asam lemak ini juga berada pada persentase tinggi di antara semua asam lemak, masing-masing  $38,06 \pm 0,86\%$  dan  $17,89 \pm 1,24\%$  pada lemak total dan  $34,64 \pm 2,74\%$  dan  $20,33 \pm 1,05\%$  pada lemak netral. Oleh karena itu, kerang hijau merupakan sumber yang kaya akan DHA dan EPA, dua asam lemak tak jenuh ganda ini bermanfaat bagi kesehatan manusia dan sebagai nutrisi (Chan, *et al.* 2004).

Secara keseluruhan, ekstrak kerang hijau menyebabkan penghambatan pertumbuhan pada bakteri gram positif dan gram negatif, yangmana tidak secara selektif menghambat satu kelompok mikroorganismenya. Di antara tiga kelompok utama metabolisme primer kerang (protein, lemak, karbohidrat), lipida sejauh ini menunjukkan potensi tertinggi untuk pengembangan komersial makanan atau

makanan yang bermanfaat untuk suplemen kesehatan. Ekstrak lipid kerang biasanya diperoleh dengan ekstraksi daging kerang segar atau beku (Chakraborty, *et al.* 2014).

Chakraborty, *et al.* (2011) menjelaskan bahwa, secara umum lemak pada *Perna* diketahui mengandung senyawa utama asam lemak omega-3 PUFAs (EA, EPA dan DHA). Efek anti-inflamasi ditemukan baik pada ekstrak kasar lemak non-hidrolisa dan fraksi trigliserida hidrolisa. Terutama setelah saponifikasi ekstrak kasar, kandungan EPA dan DHA memiliki persentase 37% dari total asam lemak. Tidak ada perbedaan yang signifikan terlihat pada sampel liar dan berbudidaya. Komposisi PUFA moluska laut dianggap ditandai dengan dominasi  $\omega$ -3 PUFA, terutama *eicosapentaenoic acid* (EPA) (20: 5n-3, 12,7-12,8%) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) (22: 6n- 3, 9,6-9,9%), yang biasanya mendekati setengah dari total asam lemak. EPA dan DHA adalah kandungan asam lemak yang penting antara sampel yang dipanen dalam kondisi liar dan berbudidaya, jelas mengindikasikan kondisi optimum pada kerang budidaya yang menyerupai kondisi liar. Asam lemak  $\omega$ -3 ini banyak tersedia di *P. viridis*, merupakan sumber penting aktivitas anti-inflamasi.

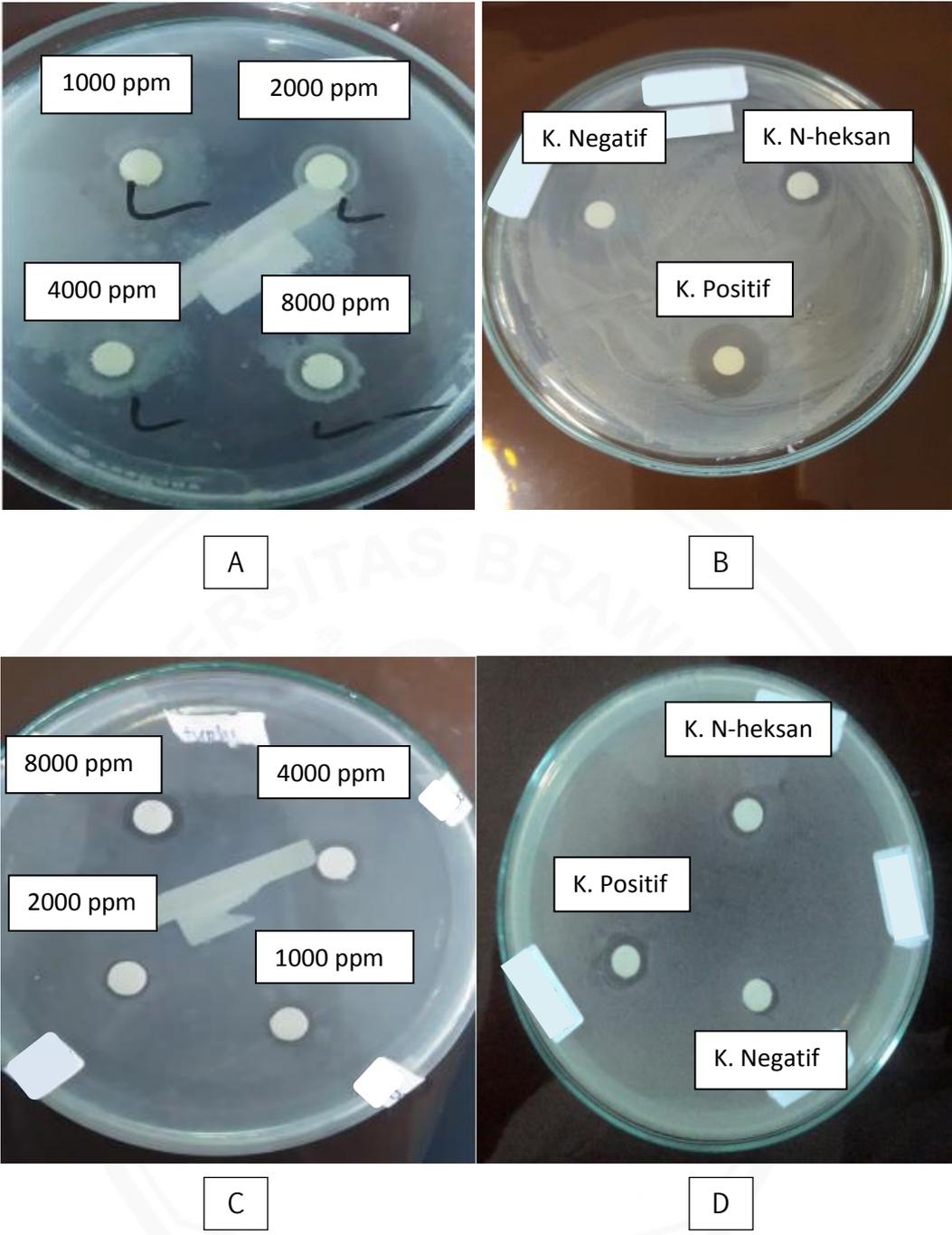
Kerang merupakan moluska air yang menjadi mayoritas sumber daya perikanan laut, genus *Perna* menjadi salah satu kerang yang paling penting secara komersil. Tingkat konsumsi moluska bivalvia di India, khususnya daerah Malabar selatan, telah meningkat dalam beberapa tahun ini, baik kerang dalam kondisi liar maupun kerang budidaya. Manfaat bagi kesehatan yang berkaitan dengan mengonsumsi kerang karena adanya sumber asam lemak tak jenuh ganda rantai panjang (LC-PUFAs), terutama rantai panjang  $\omega$ -3 PUFA yang mengandung *eicosapentaenoic acid* (20: 5n-3;EPA) dan *docosahexaenoic acid* (22: 6n-3; DHA), yang mana memiliki potensi dalam bidang farmasi dan biomedis. Ini tidak seperti kebanyakan terestrial organisme, yang kaya akan

asam lemak  $\omega$ -6. Organisme laut, terutama kerang, adalah sumber nutrisi yang baik. Asam lemak adalah indikator biokimiawi yang penting pada *Perna viridis* yang memberikan kontribusi terhadap kualitas nutrisinya. Analisis profil asam lemak dari *Perna viridis* mengungkapkan adanya  $\omega$ -3 PUFA yaitu EPA dan DHA (masing-masing 7,0% dan 7,9%). PUFA dengan lebih dari 20 atom karbon mewakili lebih dari 18% dari total asam lemak, menunjukkan nutrisi tinggi dan juga nilai terapeutik *Perna viridis*. Asam lemak jenuh (SFA) menyumbang 42,3% dari total asam lemak, dan diikuti oleh PUFA 28,4% dan asam lemak tak jenuh tunggal MUFA 21% (Chakraborty, *et al.* 2014).

Jayasooriya, *et al.* (2014) mencatat produk terbaik persentase lemak kurang dari 2,6%, 4,48%, 3,24% dari beberapa kerang hijau yang dibudidayakan di Ubatuba, negara bagian Sao Paulo di Brasil, dan persentase lemak 1,58% - 6,58% pada kerang hijau di beberapa daerah di Asia. Kerang hijau (*Perna viridis*) memiliki peran sosio-ekonomi yang penting di Asia, selain banyak dikonsumsi, kerang penting secara ekonomi dan memiliki nilai gizi yang baik. Dalam 100 g daging kerang, nilai gizinya meliputi; protein 11,90 g, karbohidrat 3,69 g, lemak 2,24 g, asam lemak 0,507 g, mineral dan vitamin (A6, B6, B12, E dll.).

#### 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram

Pada pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode Kirby-Bauer yakni pengujian uji daya hambat dengan menggunakan kertas cakram dari hasil ekstrak kerang hijau (*Perna viridis*) sebagai senyawa antibakteri terhadap dua jenis bakteri patogen yaitu *S. pyogenes* yang mewakili bakteri gram positif dan *S. typhi* yang mewakili bakteri gram negatif, dengan cara mengukur besar daya hambat area bening pada kertas cakram. Hasil uji cakram dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Uji Cakram

Keterangan Gambar 4. :  
A dan B: Hasil uji cakram pada bakteri *Streptococcus pyogenes*  
C dan D: Hasil uji cakram pada bakteri *Salmonella typhi*

Hasil uji daya hambat dengan metode cakram didapatkan nilai diameter zona bening (mm) yang dapat dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Tabel 6. Nilai Diameter Zona Bening Ekstrak N-Heksan Kerang Hijau (*Perna viridis*) pada Bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Perlakuan	Ulangan				Rata-Rata (mm)
	1	2	3	4	
1000 ppm	0,21	0,24	0,222	0,231	0,22575
2000 ppm	0,35	0,31	0,33	0,34	0,3325
4000 ppm	0,67	0,64	0,65	0,68	0,66
8000 ppm	1,26	1,23	1,27	1,29	1,2625
Kontrol Positif	2,31	3,22	2,5	3,5	2,8825
Kontrol Negatif	0,034	0,037	0,035	0,04	0,0365
Pelarut n-Heksan	0,351	0,32	0,331	0,36	0,3405

Tabel 7. Nilai Diameter Zona Bening Ekstrak N-Heksan Kerang Hijau (*Perna viridis*) pada Bakteri *Salmonella typhi*.

Perlakuan	Ulangan				Rata-Rata (mm)
	1	2	3	4	
1000 ppm	0,141	0,132	0,165	0,143	0,14525
2000 ppm	0,232	0,27	0,225	0,24	0,24175
4000 ppm	0,44	0,431	0,422	0,41	0,42575
8000 ppm	0,85	0,841	0,825	0,833	0,83725
Kontrol Positif	2,56	2,21	2,5	2,4	2,4175
Kontrol Negatif	0,047	0,044	0,041	0,049	0,04525
Pelarut n-Heksan	0,34	0,36	0,33	0,382	0,353

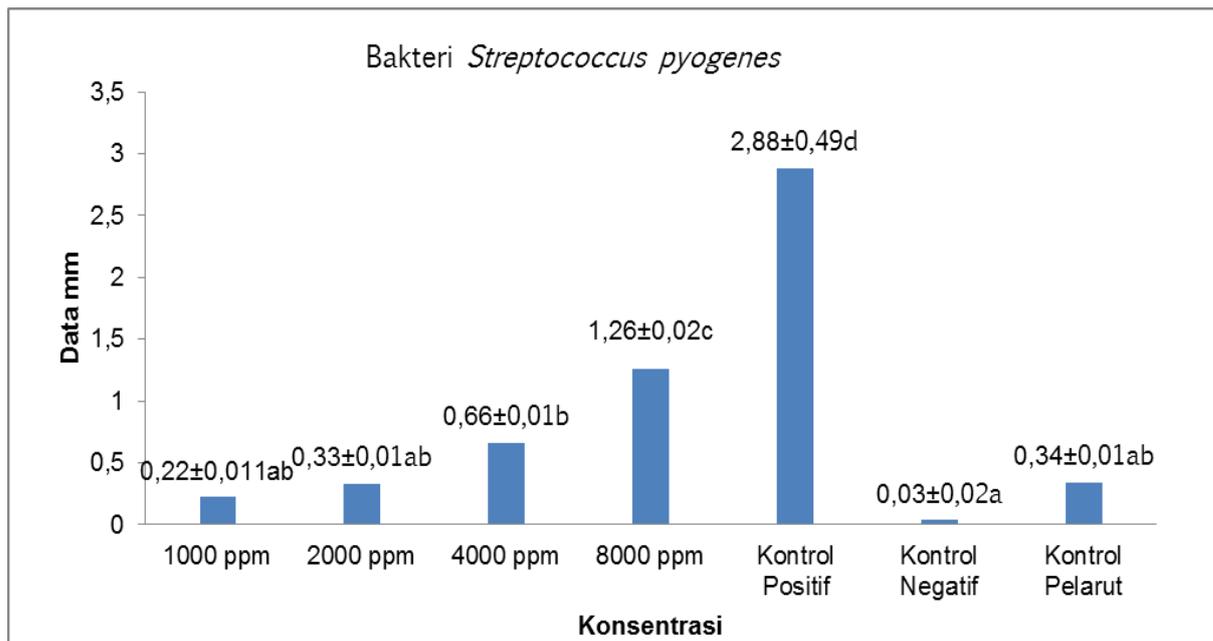
Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui hasil dari ekstrak kerang hijau (*Perna viridis*) dengan pelarut n-heksan menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada semua konsentrasi dan pelarut. Pada uji daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* menunjukkan adanya kemampuan dari antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Begitupun pada uji daya hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* yang menunjukkan adanya aktivitas



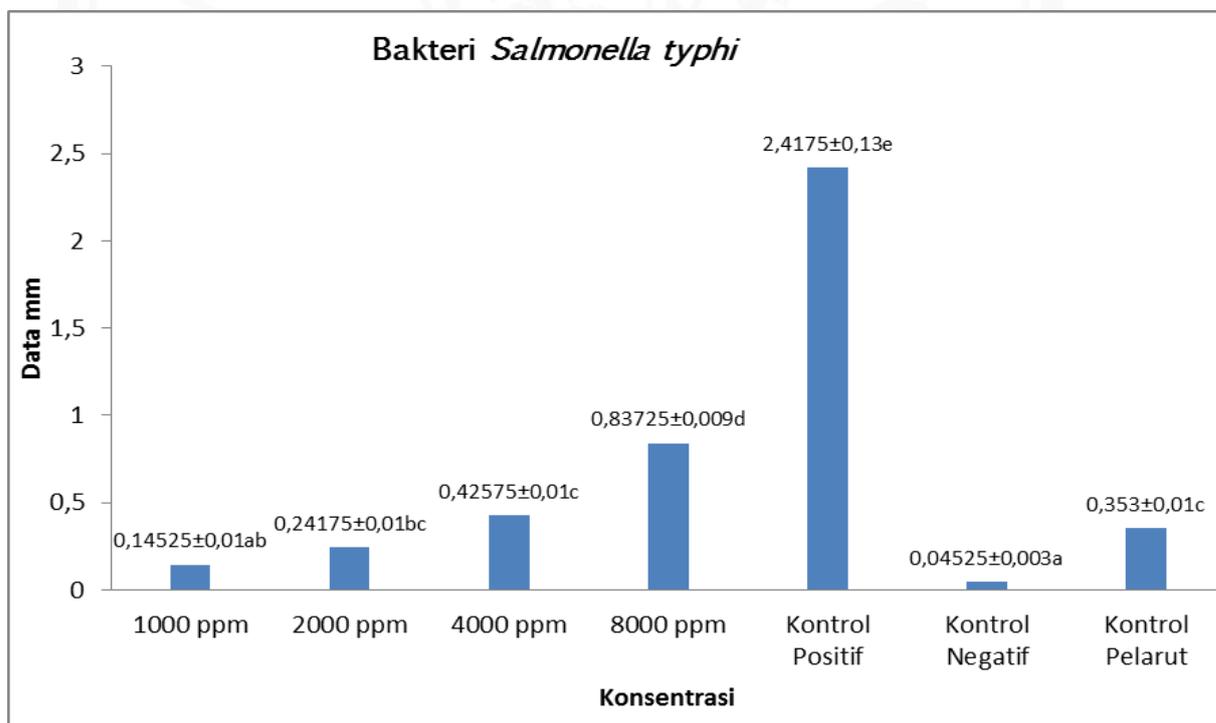
antibakteri. Hasil uji cakram terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* memiliki zona bening lebih besar daripada uji cakram terhadap bakteri *Salmonella typhi*.

Dijelaskan pada penelitian (Pebrian, 2010) *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif yang lebih tahan terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram positif. Menurut Pelczar dan Chan (2005), bakteri gram negatif lebih resisten terhadap senyawa antibakteri karena struktur dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari tiga lapis dan lebih kompleks, yaitu terdiri dari lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan. Kemudian menurut Aulia, *et al.* (2015), bakteri *Salmonella spp.* merupakan jenis bakteri gram negatif yang memiliki kemampuan untuk memompa keluar beberapa macam jenis antibiotik lebih cepat sebelum memasuki sel atau disebut dengan kemampuan *multi drug effluks*.

Berdasarkan tabel dapat diketahui bahwa nilai diameter zona bening ekstrak n-heksan kerang hijau (*Perna viridis*) tergolong lemah karena semua hasil menunjukkan nilai kurang dari 5 mm. Menurut Aulia, *et al* (2015) terdapat tiga kategori daerah hambatan zat aktif berdasarkan diameter zona hambatnya yaitu untuk diameter zona hambat kategori lemah yakni <5 mm, kategori sedang yakni 5-10 mm, kategori kuat yakni 10-20 mm. Luas area bening di sekitar kertas cakram menunjukkan tingkat kepekaan organisme terhadap senyawa antibakteri. Suptijah, *et al.* (2013) menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak kasar daging kerang hijau masih tergolong rendah karena ekstrak kerang hijau yang digunakan masih tergolong ekstrak kasar (*crude*) dan masih mengandung senyawa lain yang bukan senyawa antibakteri dan ikut terekstrak dalam pelarut selama ekstraksi.



Gambar 5. Grafik Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kerang Hijau dengan Beberapa Perlakuan terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*



Gambar 6. Grafik Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kerang Hijau dengan Beberapa Perlakuan terhadap Bakteri *Salmonella typhi*

Keterangan: Perlakuan yang memiliki notasi sama menandakan tidak berbeda nyata, perlakuan yang memiliki notasi berbeda maka menandakan berbeda nyata.

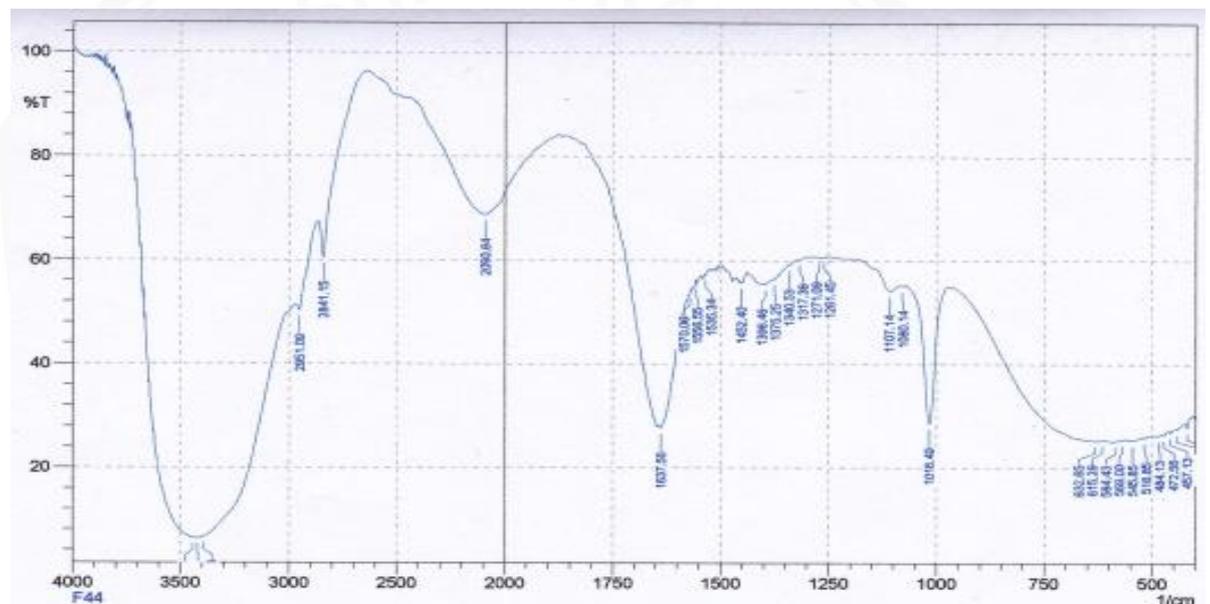
Didapatkan hasil uji ANOVA daya hambat ekstrak n-heksan kerang hijau terhadap *Salmonella typhi* menunjukkan hasil berbeda nyata, probabilitasnya lebih kecil dari 0,05. Dengan demikian terbukti bahwa ada interaksi antara sampel dan konsentrasi. Dapat disimpulkan bahwa pengaruh antara daya hambat terhadap *Streptococcus pyogenes*, daya hambat *Salmonella typhi*, daya hambat terhadap antibiotik tetrasiklin dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang signifikan.

Hasil uji antibakteri dengan metode cakram pada *Perna viridis* terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi* didapatkan hasil yang signifikan pada tiap penambahan konsentrasi. Hasil tersebut menunjukkan semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan semakin besar juga daya hambatnya. Pada perlakuan kontrol positif berbeda nyata dengan kontrol negatif. Pada kontrol positif bakteri *Streptococcus pyogenes* didapatkan zona hambat sebesar 2,88 mm sedangkan pada bakteri *Salmonella typhi* didapatkan zona hambat sebesar 2,41 mm. Hal tersebut sesuai dengan yang dikemukakan Kiran, *et al.* (2014), bahwa tetrasiklin atau sebagai kontrol positif dapat menghambat pertumbuhan bakteri dalam spektrum yang luas dalam konsentrasi rendah. Mekanisme antibiotik tetrasiklin dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu menghambat persenyawaan amino-asil-tRNA pada ribosom (Arthasari, 2015).

Hasil uji antibakteri pada pelarut n-heksan terdapat adanya aktivitas antibakteri, dikarenakan n-heksan mempunyai sifat yang mampu menghambat aktivitas bakteri. Menurut Husni, *et al.* (2013), n-heksan dapat berperan sebagai antibakteri karena mengandung senyawa fenol. Dimana mekanisme fenol sebagai antimikroba yaitu dengan merusak membran sitoplasma dan dapat

menyebabkan kerusakan inti sel. Menurut Amalia, *et al.* (2014) bakteri gram positif memiliki kepekaan terhadap antibakteri lebih baik dibandingkan gram negatif karena adanya perbedaan struktur dinding sel. Struktur dinding sel bakteri gram negatif relatif lebih kompleks, berlapis tiga yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan. Sedangkan struktur dinding sel mikroba gram positif relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

#### 4.4 Uji Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)



Gambar 7. Hasil Uji FTIR

Hasil uji gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan pita serapan yang terdapat pada daerah bilangan gelombang 1647  $\text{cm}^{-1}$ , bilangan gelombang 2094  $\text{cm}^{-1}$ , bilangan gelombang 2841  $\text{cm}^{-1}$ , dan bilangan gelombang 2941  $\text{cm}^{-1}$ . Pembacaan gugus fungsi dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Panjang Gelombang dan Gugus FTIR

Sampel	Puncak Serapan (cm <sup>-1</sup> )	Standar Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )*	Gugus Dugaan	
Ekstrak Kasar Kerang Hijau	1647	1640 – 1680	C=C	Alkena aromatik
	2094	2000 – 3600	O-H	Alkohol & fenol (ikatan hidrogen)
	2841	2000 – 3600	O-H	Alkohol & fenol (ikatan hidrogen)
	2941	2850 – 2960	C-H	Alkana

\*Raharja dan Cahyani (2013)

Dugaan gugus fungsi dengan uji FTIR pada sampel *Perna viridis* menunjukkan adanya gugus fungsi C=C menunjukkan adanya senyawa alkena aromatik yang muncul pada puncak serapan 1647. Dugaan gugus fungsi O-H menunjukkan adanya senyawa alkohol dan fenol yang muncul pada puncak serapan 2094 dan 2841. Dugaan gugus fungsi C-H menunjukkan adanya senyawa alkana yang muncul pada puncak serapan 2941. Menurut Benkendorfl (2010), senyawa-senyawa yang mampu berperan sebagai antibakteri biasanya mengandung ikatan rangkap C=C alkena alifatik dan aromatik, C=O karbonil, gugus C-O-C ester, gugus metilena, serta gugus metil. Hal ini berarti membuktikan bahwa kandungan kerang hijau dapat digunakan sebagai antibakteri, karena pada hasil uji FTIR ekstrak kasar kerang hijau terdapat ikatan rangkap C=C dan ikatan tunggal C-H. Pada hasil uji FTIR juga didapatkan ikatan tunggal O-H yaitu gugus alkohol/hidroksil sebagaimana menurut Pelczar dan Chan (1986), senyawa alkohol dan asam karboksilat diduga memiliki aksi sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam mekanismenya, alkohol berperan dalam mendenaturasi protein, merusak dinding sel, dan sebagai sarana dehidrasi sel. Sehingga bisa dikatakan bahwa ekstrak kasar kerang hijau dengan pelarut n-heksan memiliki aktivitas antibakteri.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan bahwa ekstrak kasar kerang hijau (*Perna viridis*) menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella typhi*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona bening pada uji daya hambat antibakteri dengan metode cakram. Didapatkan rata-rata terbaik zona hambat terhadap *Streptococcus pyogenes* pada konsentrasi 8000 ppm sebesar 1,26 mm dan pada *Salmonella typhi* dengan konsentrasi 8000 ppm sebesar 0,83 mm. Hasil uji FT-IR menunjukkan pita serapan yang terdapat pada daerah bilangan gelombang  $1647\text{ cm}^{-1}$ ,  $2094\text{ cm}^{-1}$ ,  $2841\text{ cm}^{-1}$ , dan  $2941\text{ cm}^{-1}$  dengan gugus dugaan masing-masing adalah C=C Alkena aromatik, O-H Alkohol dan fenol (ikatan hidrogen), dan C-H Alkana. Dimana gugus dugaan C=C, C-H, O-H sesuai dengan struktur asam linoleat (EPA dan DHA).

### 5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk pelarut yang berbeda dan mengidentifikasi lebih lanjut senyawa-senyawa asam lemak dan turunannya sebagai antibakteri. Serta perlu dilakukan uji lanjut GC-MS untuk mengetahui kandungan asam lemak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Nurjanah., T. Hidayat., V. Yusefi. 2013. Profil Asam Amino dan Asam Lemak Kerang Bulu (*Anadara antiquata*). *JPHPI* **16** (2): 159-167.
- Aini, F., A. Djamal., E. Usman. 2016. Identifikasi Carrier Bakteri Streptococcus  $\beta$  Hemolyticus Group A pada Murid SD Negeri 13 Padang Berdasarkan Perbedaan Umur dan Jenis Kelamin. *Jurnal Kesehatan Andalas* **5** (1): 145-148.
- Akerina, F. O., T. Nurhayati., R. Suwandu. 2015. *Isolation and Characterization of Antibacterial Compounds from Sea Urchin*. *JPHPI* **18** (1): 61-73.
- Amalia, S., S. Wahdaningsih., E. K. Untari. 2014. *Antibacterial Activity Testing of N-Hexane Fraction of Red Dragon (Hylocereus polyrhizus Britton & Rose) Fruit Peel on Staphylococcus aureus ATCC 25923*. *Traditional Medicine Journal* **19** (2): 89-94
- Anam, C., Sirojudin., K. S. Firdausi. 2007. Analisa Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin, dan Spirtus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR. *Berkala Fisika* **10** (1): 79-85. ISSN 1410-9662.
- Ariyani, F., L. E. Setiawan., F. E. Soetaredjo. 2008. Ekstraksi Minyak Atsiri dari Tanaman Sereh dengan Menggunakan Pelarut Metanol, Aseton, dan N-Heksana. *Widya Teknik* **7** (2): 124-133.
- Arthasari, D. A. 2015. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Biji dan Batang Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Streptococcus pyogenes* serta Bioautografinya. [SKRIPSI] Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Atma, Y. 2016 Angka Paling Memungkinkan (MPN) dan Metode Analisis Sederhana Rumus Federer. *J. Teknologi* **8** (2): 77-82.
- Aulia, R., T. Handayani., Y. Yennie. 2015. Isolasi, Identifikasi, dan Enumerasi Bakteri *Salmonella* spp. pada Hasil Perikanan serta Resistensinya terhadap Antibiotik. *BIOMA* **11** (1): 15-33. ISSN 0126-3552.
- Awanis, M. A. dan A. A. Mutmainnah. 2016. Uji Anti Bakteri Ekstrak Oleoresin Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrub*) terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*. 2016. *Jurnal Ilmiah Kedokteran* **3** (1): 33-41
- Benkendorfl, K. 2010. *Molluscan Biological and Chemical Diversity: Secondary Metabolites and Medicinal Resources Produced my Marine Molluscs*. *Journal Compilaion*: 1-21
- Cappenberg, H. A. W. 2008. Beberapa Aspek Biologi Kerang Hijau (*Perna viridis*) Linnaeus 1758. *J. Oseana* **33** (1): 33-40.
- Chakraborty, K., P. Vijayagopal., P. K. Asokan., K. K. Vijayan. 2011. *Green Mussel as Health Food and as a Nutraceutical Supplement*. *Central Marine Fisheries Research Institute*.

- Chakraborty, K., S. J. Chakkalakal., D. Joseph. 2014. *Effect of Natural Additives on the Fatty Acid Signatures of Green Mussel Perna viridis L. in a time-Dependent Accelerated Shelf Life Study. Journal of Food Quality* **37**: 415-428. ISSN 1745-4557.
- Chan, K. Y., Q. F. Gao., K. M. Yip., W. H. Wong., P. K. S. Shin., S. G. Cheung. 2004. *Lipid Content and Fatty Acid Composition in the Green-Lipped Mussel Perna viridis (L.). Abstracts Journal of Food Lipids* **11** (2): 123-130.
- Chandran, B., G. Rameshkumar., S. Ravichandran. 2009. *Antimicrobial Activity from the Gill Extraction of Perna viridis (Linnaeus, 1758). Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* **4** (2): 88-92. ISSN 2078-466X.
- Cita, Y. P. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tifoid. *J. Kesehatan Masyarakat* **6** (1): 42-46.
- Darmawati, S. 2009. Keanekaragaman Genetik *Salmonella typhi*. *J. Kesehatan* **2** (1): 27-33.
- Datta, D., S. N. Talapatra., S. Swarnakar. 2015. *Bioactive Compounds from Marine Invertebrates for Potential Medicines - An Overview. International Letters of Natural Sciences* **34**: 42-61. ISSN 2300-9675.
- Diana, F. M. 2012. Omega 3. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* **6** (2): 113-117.
- Drake, D.R., K. A., Brogden., D. V. Dawson., P. W. Wertz. 2008. *Thematic Review Series: Skin Lipids Antimicrobial Lipids at the Skin Surface. J. Lipid Res.* **49**: 4-1.
- Eshmat, M. E., G. Mahasri., B. S. Rahardja. 2014. Analisis Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) dan Cadmium (Cd) pada Kerang Hijau (*Perna viridis L.*) di Perairan Ngemboh Kabupaten Gresik Jawa Timur. *J. Ilmiah Perikanan dan Kelautan* **6** (1): 101-108.
- Fajar, W. P. 2008. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Organotin IV Karboksilat: Trimetiltimah N-Maleoilglisinat. [SKRIPSI] Kimia FMIPA Universitas Indonesia.
- Fatimah, C., U. Harahap., I. Sinaga., Safrida., Ernawati. 2006. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Angsana (*Pterocarpus indicus*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah PANNMED* **1** (1): 1-8.
- Gifari, A. 2011. Karakteristik Asam Lemak Daging Keong Macan (*Babylonia spirata*), Kerang Tahu (*Meretrix Meretrix*), dan Kerang Salju (*Pholas dactylus*). [SKRIPSI] Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Harbone, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Ed. 2. ITB. Bandung.
- Hasan, T., A. R., Patong, A. W., Wahab, M, dan N., Djide. 2014. Isolasi dan Implementasi Protein Bioaktif Kepah *Atactodea striata* Sebagai Bahan Obat Antibakteri. Pascasarjana Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin.
- Hermawan, M., J. Sherma., T. Kowalska. 2007. *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*. CRC Press. London.

- Hidayati, F., Y. S. Darmanto., Romadhon. 2017. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Kerang Hijau (*Perna viridis*) dan Lama Penyimpanan terhadap Oksidasi Lemak pada Fillet Ikan Patin (*Pangasius sp.*). *J. of Information Literacy* **15** (1): 64-73.
- Husni, A., D. R. Putra., I. Y. B. Lelana. 2014. Aktivitas Antioksidan *Mytilus sp.* Pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan. *JPB Perikanan* **9** (2): 62-67.
- Irvan, P. B., Manday, J. Sasmitra. 2015. Ekstraksi 1,8-Cineole dari Minyak Daun *Eucalyptus Urophylla* dengan Metode Soxhletasi. *J. Teknik Kimia USU* **4** (3): 62-68.
- Jackman, J., B. K. Yoon., D. Li., N. J. Cho. 2016. *Nanotechnology Formulations for Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides*. *MDPI* **21**: 1-19.
- Jaedun, A. 2011. Metode Penelitian Eksperimen. Fakultas Teknik UNY, Yogyakarta.
- Jayasooriya, M. C. N., V. S. Jayamanne., M. T. N. Ranathunge. 2014. *Development of New Processed Mussel Product Using Loal Mussel Species (Perna viridis)*. *Sabaragamuwa University Journal* **13** (1): 57-64. ISSN 1391-1366.
- Kastoro, W. 1982. Usaha Budidaya Kerang Hijau (*Mytilus viridis*) di Indonesia. Jakarta. LON-LIPI.
- Kiran, N., Siddiqui, G., A.N. Khan., K. Ibrar., P. Tushar. 2014. *Extraction and Screening of Bioactive Compounds with Antimicrobial Properties from Selected Species of Mollusk and Crustacean*. *J. Clin Cell Immunol* **5** (1): 1-5.
- Kuspradini H, Pasedan W F, Irawan W K. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Daun *Pometia pinatta*. *Jurnal Jamu Indonesia* **1**(1): 26-34.
- Liliandari, P dan Aunurohim. 2013. Kecepatan Filtrasi Kerang Hijau (*Perna viridis*) terhadap *Chaetoceros sp.* dalam Media Logam Tercemar Kadmium. *J. Sains dan Seni Pomits* **2** (1): 1-6.
- Manullang, B., S. Purwaningsih., A. Tria. 2016. Karakteristik Asam Amino, Asam Lemak, dan Mineral Kelinci Laut. *JPHPI* **19** (2): 168-176.
- Marhamah. 2014. Pengaruh Waktu Kontak dan Konsentrasi Rebusan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* Penyebab Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA).
- McGaw, L.J., A. K. Jager., J. V. Staden. 2012. *Antibacterial Effects of Fatty Acids and Related Compounds*. *South African Journal of Botany* **68**: 417-423. ISSN 0254-6299.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Kesehatan* **7** (2): 361-367.
- Murhadi. 2009. Senyawa dan Aktivitas Antimikroba Golongan Asam Lemak dan Esternya. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* **14** (1): 97-105.

- Nur, W. F., K. M. Yuliawati., L. Syafnir. 2015. Identifikasi Senyawa Aktif Antibakteri Dengan Metode Bioautografi KLT terhadap Ekstrak Etanol Tangkai Daun Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott). *Prosiding penelitian SPESIA UNISBA*. ISSN 2460-6472.
- Nurjanah., A. M. Jacob., R. G. Fetrisia. 2013. Komposisi Kimia Kerang Pisau (*Solens* sp.) dari Pantai Kejawan, Cirebon, Jawa Barat. *JPHPI* **16** (1): 22-32.
- Pati, P., B. K. Sahu., C. Panigrahy. 2014. *Marine Molluscs as a Potential Drug Cabinet: an Overview*. *Indian Journal of Geo-Marine Science* **44** (7): 961-970.
- Pebrian, Feri. 2010. Penapisan Awal Senyawa Antibakteri dari Ekstrak Kerang Hijau (*Perna viridis*). [SKRIPSI] Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, FPIK, IPB Bogor.
- Pelczar, M dan E.C.S Chan. 1988. Distribusi Logam Berat pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) dari Perairan Kamal Muara Tangerang-Jakarta. Jakarta: UI Press.
- Raharja, S. dan D. Cahyani. 2013. Isolasi dan Identifikasi Monoasilgliserol Omega-3 (Monoester Omega-3). *E-Jurnal Agroindustri Indonesia* **2** (1): 162-168. ISSN 2252-3324.
- Rahayu W. P, R. Rinanti., S. Nurjanah., C. C. Nurwitri. 2014. Identifikasi *Listeria monocytogenes* Pada Kerang Hijau dan Kerang Darah. *JPHPI* **19** (3):329-338.
- Rahman, M. A. 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*. Skripsi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ramasamy, P. A. B. Vino., R. Saravanan., N. Subhapradha., V. Shanmugam., A. Shanmugam. 2011. *Screening of Antimicrobial Potential of Polysaccharide from Cuttlebone and Methalonic Extract from Body Tissue of Sepia prashadi*. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*: S244-S248.
- Rasyida, K., B. Kuswandi., N. Kristiningrum. 2014. *Fourier Transfrom Infrared (FTIR) Spectroscopy Technique and Chemometrics*. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan* **2** (2): 320-326.
- Rochmawati, I., M. Ibrahim., R. Ambarwati. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kerang Pisau dan Kerang Simping. *Journal of Biology & Biology Education* **7** (2): 128-135.
- Rohaeti, E. dan Senam. 2010. Biodegradasi Poliuretan Hasil Sintesis dari Minyak Kedelai, Polioksietilen Glikol, dan Metilen-4,4-Difenildiisosianat. *Jurnal Penelitian Saintek* **15** (2): 10-25.
- Simon, K. 2012. Penghambatan Sabun Mandi Cair Berbahan Aktif Triclosan Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Di Daerah Babarsari, Sleman, Yogyakarta. [skripsi] Universitas Atmajaya Yogyakarta.

- Supriyantini, E., Widowati., Ambariyatin. 2007. Kandungan Asam Lemak Omega-3 (Asam Linoleat) pada Kerang Totok (*Polymesoda erosa*) yang Diberi Pakan *Tetraselmis chuii* dan *Skeletonema coastatum*. *Jurnal Ilmu Kelautan* **12** (2): 97-103.
- Suptijah, P., O. Yanuarizki., Nurjanah. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Simping (*Amusium pleuronectes*). *JPHPI* **16** (3): 242-248.
- Suryani, T. dan F. Hikmawati. 2016. Kualitas dan Daya Simpan Kerang Hijau pada Variasi Jenis Pengawet Alami dan Lama Perendaman. *Proceeding Biology Education Conference* **13** (1): 836-842. ISSN 2528-5742.
- Thilaga, R. D., S. Vimala., P. Subavathy. 2014. *Isolation and Characterization of Bioactive Compounds and Antibacterial Activity of Marine Gastropod Phalium Glaucum (L)*. *International Journal of Pure and Applied Zoology* **2** (3): 218-223. ISSN 2320-9585.

