

**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum polycystum*
DENGAN BERBAGAI PELARUT TERHADAP *Escherechia
coli* DAN *Vibrio parahaemolyticus***

**LAPORAN SKRIPSI
TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :
BAGOES EBTANANTO
NIM. 0510830013



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2010**

**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK *Sargassum polycystum*
DENGAN BERBAGAI PELARUT TERHADAP *Escherichia coli*
DAN *Vibrio parahaemolyticus***

**Laporan Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Pada Fakultas Perikanan Dan Kelautan
Universitas Brawijaya**

OLEH :

**BAGOES EBTANANTO
NIM . 0510830013**

Menyetujui
Dosen Penguji I

(Ir. Kartini Z, MP)

Tanggal :

Dosen Penguji II

(Ir. Darius, M.Biotech)

Tanggal :

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

(Ir. Bambang Budi S, MS)

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Hartati Kartika N, MS)

Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)

Tanggal :

RINGKASAN

BAGOES EBTANANTO. Daya Antibakteri Ekstrak *Sargassum polycystum* Dengan Berbagai Pelarut Terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus* (di bawah bimbingan Ir. Bambang Budi Sasmito, MS. dan Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS.)

Alga coklat adalah salah satu biota laut yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh algae coklat telah banyak diketahui manfaatnya antara lain adalah sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, antioksidan dan menghambat aktivitas enzim. Untuk mendapatkan zat bioaktif diperlukan metode ekstraksi yang tepat. Metode ekstraksi yang tepat memerlukan adanya pelarut yang sesuai tingkat kepolarannya sehingga diperoleh senyawa bioaktif sesuai dengan kualitas dan kuantitas yang diinginkan.

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini berkembang bahwa antibakteri merupakan senyawa kimia yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh suatu mikroorganisme. Antimikrobia yang ideal menunjukkan sifat toksisitas selektif, toksisitas yang selektif merupakan fungsi reseptor yang spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat atau karena hambatan biokimia yang terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada bulan April sampai Juli 2010.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimen yang dilanjutkan dengan metode deskriptif. Metode eksperimen menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 3 kali ulangan. Parameter uji yang digunakan adalah parameter kuantitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1% dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNJ pada taraf 5 % untuk mengetahui perlakuan terbaik, dalam hal ini jenis pelarut yang digunakan. Metode deskriptif dilakukan dengan menggunakan uji Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS) terhadap ekstrak alga coklat yang memiliki daya antibakteri terbaik untuk mengidentifikasi komponen antibakteri yang terkandung di dalamnya berdasarkan kesamaan *peak* hasil GC-MS dengan *peak* standar pada luas dan retensi waktu tertentu.

Hasil penelitian menunjukkan dari ketiga pelarut yakni metanol, acetone, dan heksan, heksan merupakan pelarut yang paling baik digunakan untuk ekstraksi senyawa antibakteri *Sargassum polycystum*. Ekstrak *Sargassum polycystum* dengan pelarut heksan lebih efektif untuk menghambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* daripada bakteri *Escherichia coli*. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak heksan terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 7,39 mm sedangkan rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah 7,46 mm.

Berdasarkan kromatogram yang dapat terbaca melalui uji GC-MS, diketahui bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* yang dimaserasi dengan heksan mengandung 47 jenis senyawa bioaktif dengan 13 senyawa dianggap dominan. Senyawa-senyawa

tersebut antara lain: *1-Hexadecene, 1-Heptadecene, 1-Octadecene, 1-Nonadecene, 1-Docosene, 3-Eicosene, 1-Tricosanol, 1-Nonadecanol, Cyclotetracosane, Heneicosane, Octacosane, Pentatriacontane, Hexatriacontane*. Secara keseluruhan, 47 senyawa bioaktif diklasifikasikan dalam kelompok alkana, alkena, alkanol dan asam karboksilat berdasarkan ada tidaknya ikatan rangkap dan jenis gugus fungsi. Senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri berasal dari golongan alkena, alkanol, dan asam karboksilat.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah dan puji syukur yang tidak terhingga penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat, hidayah dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan penelitian dan penulisan laporan skripsi dengan judul “**Daya Antibakteri Ekstrak *Sargassum polycystum* Dengan Berbagai Pelarut Terhadap *Escherechia coli* Dan *Vibrio parahaemolyticus*”**. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

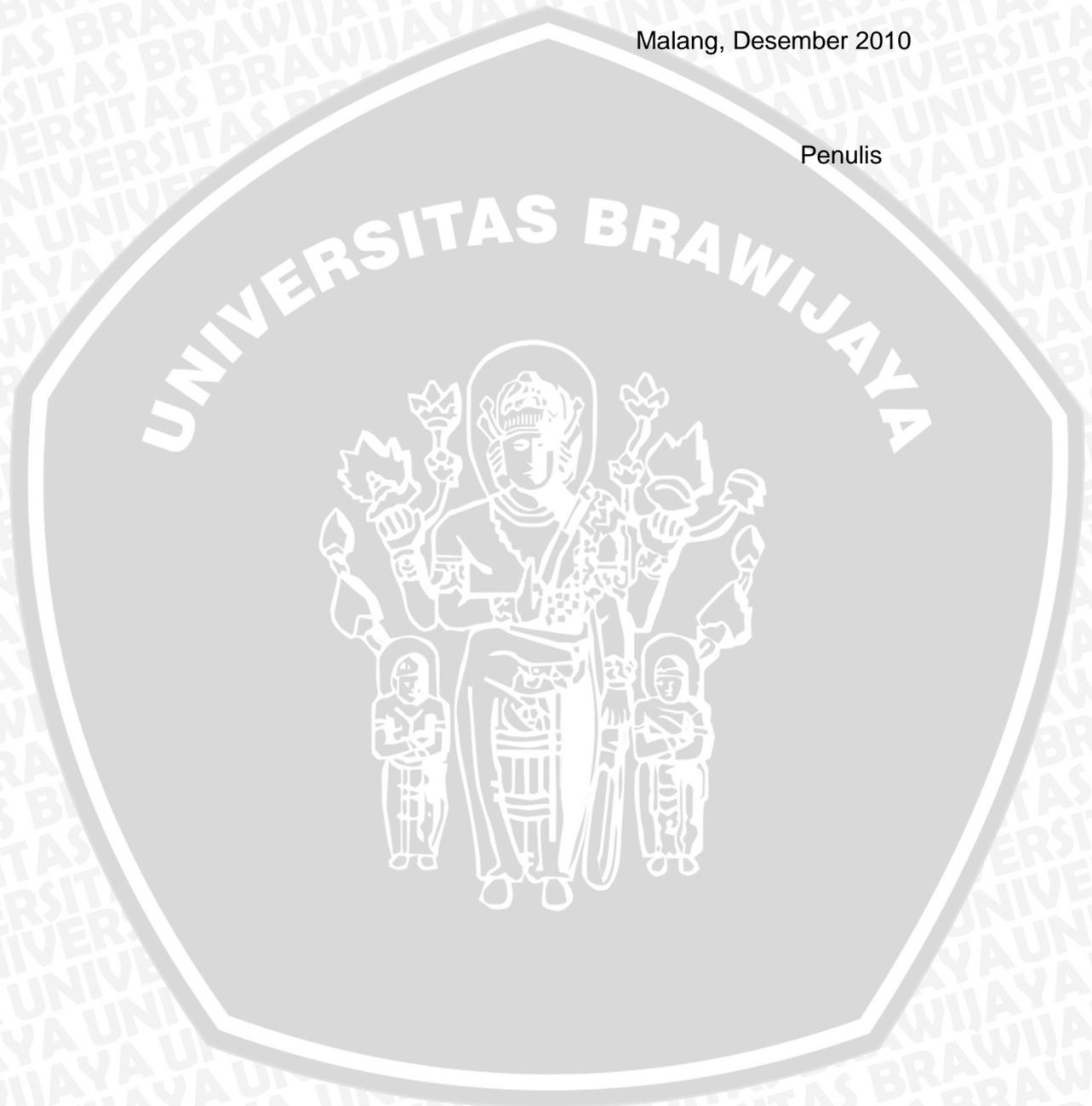
Penulis mengucapkan terima kasih atas terselesaikannya Penelitian Skripsi ini kepada :

- Bapak Ir. Bambang Budi S, MS dan Dr. Ir. Hartati Kartika, MS selaku Dosen Pembimbing atas segala petunjuk dan bimbingan mulai penyusunan usulan Proposal Skripsi sampai dengan selesainya Laporan Skripsi.
- Ibu Ir. Kartini Zaelani, MP dan Bapak Ir. Darius M.Biotech selaku Dosen Penguji atas segala masukan serta kritiknya selama ujian dan saat pengerjaan revisi Laporan Skripsi sampai dengan selesai.
- Papa dan Mama tercinta atas doa restu dan dukungan yang telah diberikan serta Adikku tersayang.
- Alumni Squadra Brojol FC 2005 dan tak terkecuali semua THP-ers 2005 yang alumni atau masih eksis serta Adik-adik tingkat 2006-2007.
- Tim Rumput Laut, Ida dan Frengo, terima kasih untuk semua kerja samanya.
- Untuk Arek-arek WG 36 yang selalu kasih support dan semangat.
- Serta semua pihak yang telah memberikan dorongan dan bantuan sehingga dapat tersusunnya laporan ini.

Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun guna perbaikan skripsi ini. Akhirnya semoga apa yang ada di dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

Malang, Desember 2010

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
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	5
1.6 Tempat dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 <i>Sargassum polycystum</i>	6
2.2 Pelarut.....	8
2.2.1 Metanol.....	9
2.2.2 Aceton	10
2.2.3 Heksan	11
2.3 Ekstraksi	12
2.4 Antibakteri.....	13
2.4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram).....	14
2.4.2 Bakteri Uji Gram Negatif	15
2.4.2.1 <i>Escherichia coli</i>	16
2.4.2.2 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	18
2.5 Uji GC-MS	19
2.5.1 Sistem Peralatan GC	20
2.5.1.1 Fase Gerak pada GC	22

2.5.1.2 Ruang Suntik Sampel pada GC	23
2.5.1.3 Kolom pada GC.....	23
2.5.1.4 Detektor pada GC	24
2.5.2 Spektrometri Massa (SM)	25
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	27
3.1 Materi Penelitian	27
3.1.1 Bahan Penelitian	27
3.1.1.1 Rumput Laut	27
3.1.1.2 Bahan Pelarut Maserasi.....	28
3.1.1.3 Bahan Uji Cakram	28
3.1.2 Alat Penelitian.....	28
3.2 Metode Penelitian	29
3.2.1 Metode Eksperimen.....	29
3.2.2 Metode Deskriptif.....	29
3.2.3 Variabel Penelitian.....	30
3.2.4 Rancangan Penelitian	30
3.2.5 Parameter Uji	31
3.2.6 Analisa Data	31
3.3 Prosedur Penelitian	32
3.3.1 Pembuatan Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	32
3.3.2 Uji Cakram	33
3.3.3 Analisis GC-MS	35
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Hasil Penelitian	36
4.1.1 Ekstraksi <i>Sargassum polycystum</i>	36
4.1.2 Uji Aktivitas Antibakteri	36
4.1.3 Intensitas Kepekaan Bakteri	40
4.1.4 Analisa GC-MS	42
4.2 Pembahasan.....	45
4.2.1 Pengaruh Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Antibakteri Dalam <i>Sargassum polycystum</i>	45
4.2.2 Senyawa Bioaktif Yang Terkandung Dalam Ekstrak <i>Sargassum</i> <i>polycystum</i>	46

4.2.3 Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri Dan Mekanisme
Penghambatan Pertumbuhan Bakteri 49

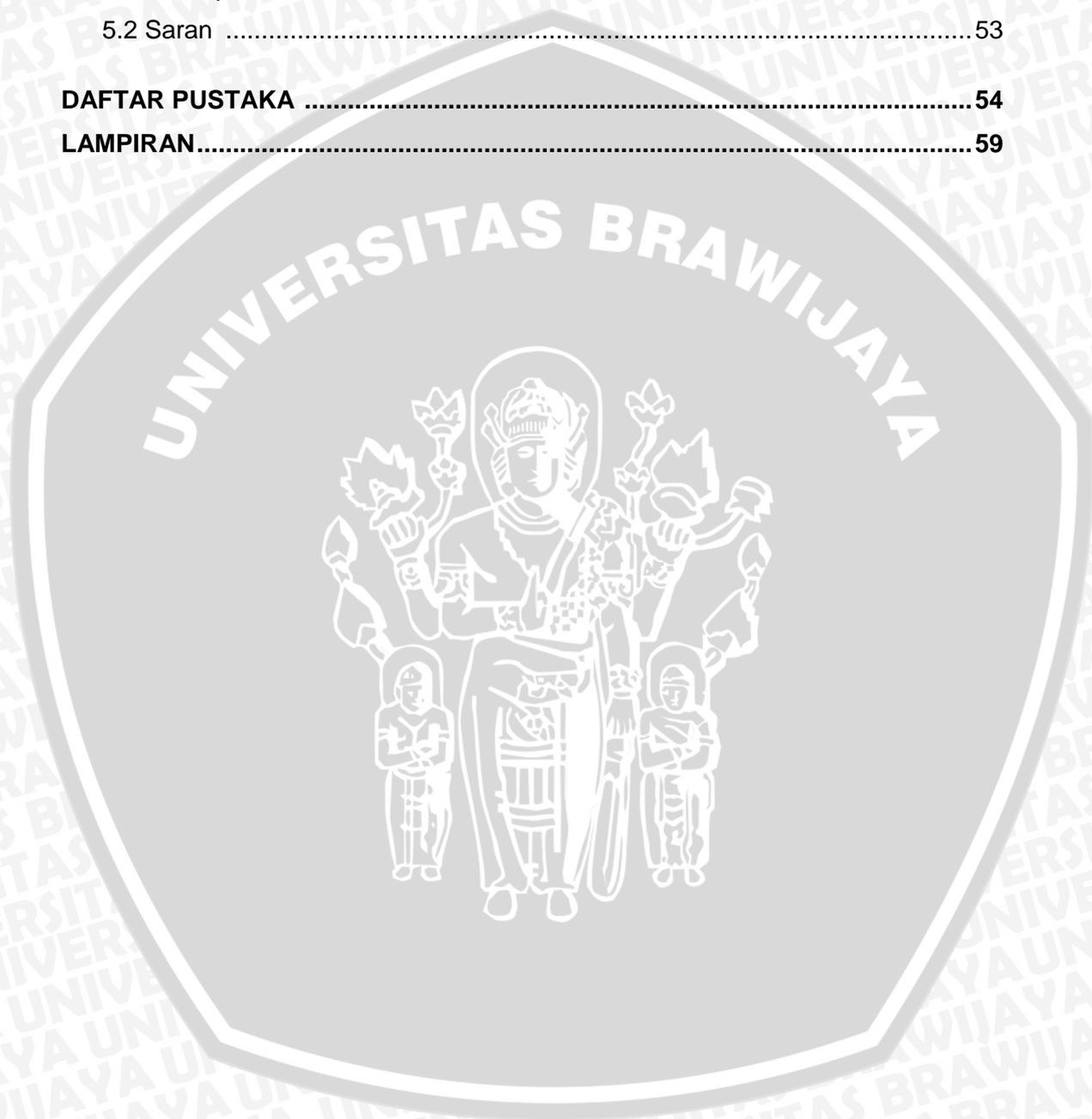
5. KESIMPULAN dan SARAN 53

5.1 Kesimpulan 53

5.2 Saran 53

DAFTAR PUSTAKA 54

LAMPIRAN..... 59



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum polycystum</i>	7
2. Rumus Molekul dan Rumus Bangun Metanol.....	9
3. Rumus Molekul dan Rumus Bangun Aceton.....	10
4. Rumus Molekul dan Rumus Bangun Heksan.....	11
5. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	17
6. Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19
7. Gas Chromatography.....	21
8. <i>Sargassum polycystum</i>	27
9. Flowchart Pembuatan Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	33
10. Hasil Ekstraksi dari <i>Sargassum polycystum</i>	36
11. Hasil Uji Cakram Bakteri <i>Escherichia coli</i>	39
12. Hasil Uji Cakram Bakteri <i>Vibrio prahaemolyticus</i>	40
13. Hasil GC-MS Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> Dengan Pelarut Heksan.....	43
14. Persentase Area Alkana, Alkena, Alkanol, dan Asam Karboksilat Dalam Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	44
15. Struktur Kimia Senyawa Alkana.....	47
16. Struktur Kimia Senyawa Alkanol.....	47
17. Struktur Kimia Senyawa Alkena.....	48
18. Struktur Kimia Senyawa Asam Karboksilat.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Konstanta Dielektrik Beberapa Bahan Pelarut.....	8
2. Sifat – Sifat Metanol	9
3. Sifat – Sifat Aceton.....	11
4. Sifat – Sifat Heksan.....	12
5. Kondisi Pengoperasian GC-MS Untuk Analisis Sampel	21
6. Rancangan Penelitian (RAL)	31
7. Notasi BNJ 5% Perbandingan Diameter Zona Hambat Pelarut dan Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> Terhadap <i>Escherichia coli</i>	37
8. Notasi BNJ 5% Perbandingan Diameter Zona Hambat Pelarut dan Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> Terhadap <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	38
9. Diameter Zona Hambatan Antibiotika dan Khemoterapetika	41
10. Senyawa Antibakteri Hasil GC-MS Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> Dengan Pelarut Heksan	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Pembuatan Media TCBSA	58
2. Prosedur Pembuatan Media TSA	59
3. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Uji Cakram Bakteri <i>Escherichia coli</i>	60
4. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Uji Cakram <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	64
5. Penggolongan Senyawa Alkana, Alkena, Alkanol, dan Asam karboksilat	68
6. Dokumentasi Penelitian	71
7 Hasil GC-MS	73



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan yang terletak di daerah tropis dengan wilayah perairan laut sekitar 75%, memungkinkan hidupnya beraneka ragam jenis biota laut. Salah satu jenis biota laut yang banyak terdapat di Indonesia dan mempunyai nilai ekonomis penting adalah rumput laut (Sutika, *et al.*, 1995). Rumput laut termasuk kedalam anggota alga (tumbuhan memiliki klorofil atau zat hijau daun). Tumbuhan yang hidup di perairan dangkal dan menempel pada karang yang mati ini dibagi ke dalam empat kelas besar yaitu *Rhodophyceae* (alga merah), *Phaeophyceae* (alga coklat), *Chlorophyceae* (alga hijau), *Cyanophyceae* (alga biru-hijau) (<http://ipteknet>, 2009).

Alga *Sargassum polycystum* merupakan salah satu spesies rumput laut yang berasal dari marga *Sargassum* kelas *Phaeophyta*. Kelas *Phaeophyta* atau lebih dikenal sebagai alga coklat mengandung berbagai *trace element* antara lain kalsium, vitamin, mineral (kalsium, kalium, magnesium, natrium, Fe, Iod, Cu, Zn, S, P dan N), alkohol, dan polisakarida. Kandungan polisakarida berupa alginat, laminaran dan fukoidan. Kandungan lainnya yaitu mannitol, pigmen beta karoten, xanthin dan picoxanthin yang berwarna merah dan dipakai sebagai zat warna untuk lipstik. Kandungan metabolit sekunder dalam alga coklat juga sudah mulai diteliti antara lain kandungan steroid, alkaloid, phenol, dan vitamin. Ternyata alga coklat sangat kaya akan kandungan steroid, alkaloid dan phenol. Beberapa alga coklat telah diteliti aktivitasnya sebagai antibakteri, kemungkinan yang berkhasiat disini adalah senyawa fenol yang dikandungnya (Rachmat, 1999).

Ma Jing Wend dan Tan Wei-ci (1984) dalam Yunizal (2004) melaporkan bahwa *Sargassum sp.* memiliki aktivitas antimikroba terhadap empat jenis bakteri yaitu, *Bacillus substillis*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Vibrio*

sp. Matanjun, et al., (2008) melaporkan dari hasil penelitian di Kalimantan Utara bahwa kandungan fenol dari 8 spesies rumput laut yang diuji menunjukkan bahwa *Sargassum* memiliki kandungan fenol lebih besar (45,16 mg PGE/g dry ekstrak).

Sargassum sp. menghasilkan senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder yang tidak mengikat halogen dan mampu bertindak sebagai antimikrobia. Komponen bioaktif yang dihasilkan berupa senyawa kompleks diterpenoid dan senyawa campuran terpenoid-aromatik yang mempunyai aktivitas biologi sebagai antibiotik (Atta-ur-Rahman dan Choudhary, 2001). Penelitian lain menyebutkan bahwa *Sargassum* memproduksi beberapa jenis senyawa sekunder, seperti florotanin (Keusge, *et al.*, 1997), steroid dan sterol (Faulkner, 1984). Florotanin mempunyai sifat antibakteri (Hay dan Fenical, 1988). Florotanin juga bersifat polar, sehingga larut dalam air dan bersifat tidak stabil. Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan, diduga senyawa aktif dalam ekstrak air dari *Sargassum* adalah florotanin (Glombitza dan Keusgen, 1995). *Sargassum* yang telah dikeringkan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Senyawa bioaktif umumnya diekstraksi dari sampel rumput laut yang masih segar (Ballantine, *et al.*, 1984, dalam Rachmaniar, 1992).

Proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok. Proses ekstraksi senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueus phase* dan *organic phase*. Ekstraksi *aqueus phase* dilakukan dengan pelarut air, sedangkan ekstraksi *organic phase* menggunakan pelarut organik. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1978).

Suatu ekstrak tumbuhan dapat diekstraksi secara habis-habisan dengan suatu seri pelarut yang meningkat kepolarannya, yaitu heksan, etil asetat dan metanol, maka fraksi bobot ekstrak yang paling besar pada umumnya adalah metanol (Munifah, *et al.*, 2005). Juneidi (2008) melaporkan tiga ekstrak rumput laut *S. polycystum*, *C. racemosa* dan *G. verrucosa* yang diekstrak dengan pelarut berbeda-beda yakni etanol, metanol, dan diethyl eter, didapatkan hasil bahwa ekstrak *S. polycystum* yang diekstrak dengan *etanol* menunjukkan zona penghambatan yang paling besar terhadap bakteri *A. alginolyticus*.

Pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (Pharmacopeial, 1993). Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Bakteri indikator yang digunakan adalah *V. parahaemolyticus* dan *E. coli*. *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri yang bersifat patogen pada ikan dan invertebrata laut. Bakteri *E. coli* merupakan indikator adanya pencemaran di lingkungan dan bersifat patogen terhadap manusia (Izzati, 2007).

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk diversifikasi pemanfaatan biota laut yang jenisnya sangat beragam di perairan Indonesia melalui pengetahuan mengenai kandungan kimia dan metode ekstraksinya. Penggunaan pelarut yang tepat dapat mengoptimalkan proses ekstraksi dan senyawa bioaktif yang didapatkan. Di masa depan, senyawa bioaktif alga coklat diharapkan dapat menjadi bakterisidal baku di bidang perikanan dan dapat diterapkan penggunaannya untuk bahan pangan. Oleh karena itu diperlukan kajian yang lebih

mendalam jenis pelarut yang tepat pada proses ekstraksi antibakteri yang ada pada alga coklat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan studi pustaka alga coklat adalah salah satu biota laut yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh telah banyak diketahui manfaatnya. Manfaat tersebut antara lain adalah sebagai antibakteri, antitumor, antivirus, antioksidan dan menghambat aktivitas enzim (Satari, 1996). Untuk mendapatkan zat bioaktif diperlukan metode ekstraksi yang tepat. Metode ekstraksi yang tepat memerlukan adanya pelarut yang sesuai sehingga diperoleh senyawa bioaktif sesuai dengan kualitas dan kuantitas yang diinginkan. Dari uraian tersebut didapat permasalahan sebagai berikut: pelarut manakah yang paling efektif digunakan untuk mengekstrak komponen antibakteri pada *Sargassum polycystum* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian dilakukan adalah untuk mengetahui jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada *Sargassum polycystum*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

- Jenis pelarut yang berpengaruh terhadap komponen antibakteri yang diekstraksi dari *Sargassum polycystum*.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

- Memberikan informasi kepada masyarakat, lembaga, dan institusi lain mengenai jenis pelarut yang paling efektif untuk mengekstrak komponen antibakteri pada *Sargassum polycystum*.
- Masyarakat dapat memanfaatkan alga coklat khususnya *Sargassum polycystum* sebagai alternatif bakterisidal alami yang sangat potensial.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Kimia Fakultas MIPA Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada bulan April - Juli 2010.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Sargassum Polycystum*

Alga atau ganggang terdiri dari empat kelas yaitu alga hijau (*chlorophyceae*), alga merah (*rhodophyceae*), alga hijau-biru (*cyanophyceae*), dan alga coklat (*phaeophyceae*). Pembagian ini berdasarkan pigmen yang dikandungnya, dimana bila dilihat ukurannya alga terdiri dari mikroskopik dan makroskopik. Alga makroskopik ini yang dikenal sebagai rumput laut (Indriani dan Sumarsih, 2001).

Sargassum polycystum merupakan salah satu spesies dari makroalga divisi Phaeophyta. Phaeophyta secara umum memiliki ciri-ciri memiliki bentuk thalus lembaran, bulat, atau menyerupai batang; warna thalus coklat. Phaeophyta memiliki pigmen fotosintetik klorofil a dan c, xantofil, fukoxantin, dan diatosantin. Cadangan makanan Phaeophyta berupa laminaran dan mannitol. Dinding sel umumnya mengandung asam alginat dan asam fucinat (the morons.net, 2010)

Karakteristik *Sargassum polycystum* berdasarkan Ipteknet (2005) antara lain: batang utama silindris pendek dengan panjang sekitar satu sentimeter dan diameter tiga milimeter, melekat dengan holdfast berbentuk *discoidal* atau *conical*, *thalli* pada percabangan adalah gepeng, berselang-seling teratur, lebar thalli mencapai 4 mm, serta tumbuh pada substrat batu di daerah ujung luar rata-rata terumbu yang terkena ombak. Sebaran alga adalah di pantai selatan Jawa dan pantai Kepulauan Seribu. Klasifikasi ilmiah *Sargassum polycystum* menurut Limukala (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Chromista
Filum : Ochrophyta
Subfilum : Phaeista
Superkelas : Phaeistia
Kelas : Phaeophyceae
Ordo : Fucales
Famili : Sargassaceae
Genus : Sargassum
Spesies : *Sargassum polycystum*



Gambar 1. *Sargassum polycystum* (google, 2010)

Sargassum sp. menghasilkan senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder yang tidak mengikat halogen dan mampu bertindak sebagai antimikrobia. Komponen bioaktif yang dihasilkan berupa senyawa kompleks diterpenoid dan senyawa campuran terpenoid-aromatik yang bersifat non polar dan mempunyai aktivitas biologi sebagai antibiotik (Rahman and M.I. Choudhary, 2001). Penelitian lain menyebutkan bahwa *Sargassum* memproduksi beberapa jenis senyawa sekunder, seperti florotanin (Keusge, *et al.*, 1997), steroid dan sterol (Faulkner, 1984). Florotanin mempunyai sifat antibakteri (Hay dan Fenical, 1988). Florotanin juga bersifat polar, sehingga larut dalam air dan bersifat tidak stabil. Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan, diduga senyawa aktif dalam ekstrak air dari *Sargassum* adalah florotanin (Glombitza dan Keusgen, 1995). *Sargassum* yang telah dikeringkan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. oleh karena itu, senyawa bioaktif umumnya diekstraksi dari sampel rumput laut yang masih segar (Ballantine, *et al.*, 1987).

2.2 Pelarut

Larutan adalah campuran homogen antara dua komponen/zat atau lebih. Dua komponen tersebut adalah pelarut (*solvent*) dan zat terlarut (*solute*). Pelarut merupakan komponen zat dalam jumlah lebih besar dalam suatu larutan (Rivai, 1995). Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan. Dalam pemilihan pelarut, pelarut harus melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar, dan titik didih antara zat yang diekstrak (Guenther, 1987).

Menurut Susanto (1999), jumlah pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, tetapi jumlah yang berlebihan tidak akan mengekstrak lebih banyak, dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal. Ditambahkan Komara (1991), banyaknya pelarut yang akan digunakan mempengaruhi konsentrasi jenuh larutan selama ekstraksi, makin banyak pelarut yang digunakan makin banyak zat terlarut yang terekstrak. Salah satu ciri penting pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi suatu zat atau senyawa adalah tetapan dielektriknya. Tetapan dielektrik pelarut adalah nisbah gaya yang bekerja pada dua muatan/kutub dalam ruangan hampa dengan gaya yang bekerja pada dua muatan tersebut dalam pelarut (Rivai, 1995). Beberapa nilai konstanta atau tetapan dielektrik bahan-bahan pelarut dapat dilihat pada Tabel 1.

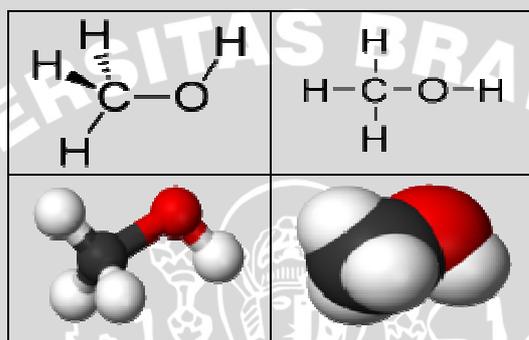
Tabel 1. Konstanta Dielektrik Beberapa Bahan Pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrik (D)	Tingkat Kelarutan Dalam Air
Kloroform	4,806	Sedikit
Etil asetat	6,02	Sedikit
n-butanol	17,80	Sedikit
2-propanol	18,30	Misibel
1-propanol	20,10	Sedikit
Aseton	20,70	Misibel
Etanol	24,30	Misibel
Metanol	33,60	Misibel
Air	80,40	Misibel

Keterangan : Misibel = dapat bercampur dengan air dalam berbagai proporsi
Sumber : Sudarmadji, *et al.*, (1997)

2.2.1 Metanol

Metanol dahulu dibuat dari kayu melalui penyulingan dan kadang dinamakan alkohol kayu. Kata metil berasal dari bahasa Latin (*methy* = anggur, *yle* = kayu). Tetapi sekarang metanol dibuat dari karbon monoksida dan oksigen. Metanol memiliki titik didih 65°C dan larut sempurna dalam air pada suhu 20°C (Hart, 1983). Rumus molekul dan rumus bangun metanol dapat dilihat pada Gambar 2 dan sifat-sifat metanol dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Rumus molekul dan rumus bangun metanol (wikipedia, 2010)

Metanol dikenal dengan nama metil alkohol atau alkohol kayu, merupakan senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Metanol adalah alkohol yang paling sederhana, ringan, volatil, tidak berwarna, mudah terbakar, cairan yang beracun dengan bau yang sangat tajam. Metanol banyak digunakan untuk anti pembekuan, pelarut, dan bahan bakar (<http://wikipedia.org>, 2009).

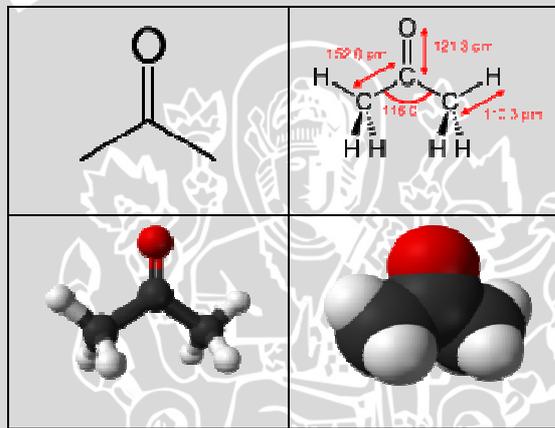
Tabel 2. Sifat - Sifat Metanol

No.	Karakteristik	Metanol
1.	Nama lain	Hidroksi metana, metil alkohol, metil hidrat, alkohol kayu dan karbinol
2.	Rumus molekul	CH_3OH
3.	Sifat	Mudah terbakar, tidak berwarna
4.	Titik leleh	-97°C, -142,9°F (176°K)
5.	Titik didih	64.7°C, 148,4°F (337,8°K)
6.	Massa molar	32.04 g/mol
7.	Densitas	0,7918 g/cm ³ , cair
8.	Titik nyala	11°C
9.	Konstanta dielektrik	33

Sumber : <http://wikipedia.org> (2009)

2.2.2 Aceton

Aceton mempunyai nama lain dimetil asetat, dimetil keton, ketopropan, metilasetil, propanon, piroasetat eter dan piroasetis spirit. Rumus molekul dari aseton adalah CH_3COCH_3 . Aceton biasa digunakan sebagai pelarut karena mempunyai sifat higroskopis, sangat volatil, tidak beresidu dan mudah terbakar. Kegunaan aseton antara lain adalah sebagai pelarut senyawa asetilen, campuran adesif, parfum, pembersih, bahan campuran resin dan lain sebagainya (Schelfan, *et al.*, 1983). Rumus molekul dan rumus bangun aceton dapat dilihat pada Gambar 3 dan sifat-sifat aceton dapat dilihat pada Tabel 7.



Gambar 3. Rumus molekul dan rumus bangun aceton (wikipedia, 2009)

Aceton adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar. Aceton digunakan sebagai pelarut aprotik polar dalam kebanyakan reaksi organik. Oleh karena polaritas aceton yang menengah, ia melarutkan berbagai macam senyawa atau larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter (<http://wikipedia.org>, 2009). Sifat-sifat aceton dapat dilihat pada Tabel 3.

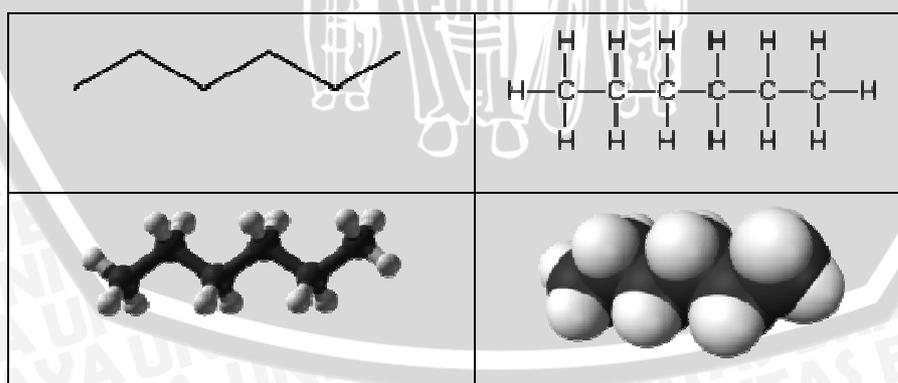
Tabel 3. Sifat - Sifat Aceton

No.	Karakteristik	Aceton
1.	Nama lain	β -ketopropana, dimetil keton, dimetilformaldehida, DMK
2.	Rumus bangun	CH_3COCH_3
3.	Sifat	Mudah terbakar, sangat volatil, tidak beresidu
4.	Berat molekul	$58,08 \text{ g mol}^{-1}$
5.	Titik leleh	$-94,6^\circ\text{C}$, 178 K , -139°F
6.	Titik didih	$56,1^\circ - 56,5^\circ\text{C}$, 330°K , 134°F
7.	Massa molar	$58,08 \text{ g/mol}$
8.	Kelarutan	larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter
9.	Densitas	$0,79 \text{ g/cm}^3$, cair

Sumber : Schelfan, *et al.*, (1983)

2.2.3 Heksan

Heksan adalah hidrokarbon dengan rumus kimia C_6H_{14} , merupakan sebuah alkana dengan enam atom karbon. Heksan adalah isomer yang tidak bercabang (n-heksana). Heksan berupa cairan tidak berwarna pada suhu kamar, dengan titik didih antara 50° dan 70°C , dengan bau mirip bensin. Mereka banyak digunakan karena murah, relatif aman, sebagian besar tidak reaktif, dan mudah menguap (non-polar pelarut) (Day and Underwood, 1999). Rumus molekul dan rumus bangun heksan dapat dilihat pada Gambar 4 dan sifat-sifat heksan dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 4. Rumus molekul dan rumus bangun heksan (wikipedia, 2009)

Heksan adalah konstituen yang berpengaruh nyata dalam bensin. Mereka adalah cairan yang tidak berwarna pada suhu ruang, dengan titik didih antara

50°-70°C, dengan bau seperti bensin. Digunakan secara luas sebagai barang yang murah, relatif aman, sebagian besar tidak reaktif, dan sangat mudah menguap, merupakan pelarut non polar (Wikipedia, 2009).

Tabel 4. Sifat - Sifat Heksan

No.	Karakteristik	Aceton
1.	Nama lain	<i>n-Hexane</i>
2.	Rumus bangun	C_6H_{14}
3.	Sifat	Mudah terbakar, berbahaya bagi lingkungan
4.	Berat molekul	86,18 g / mol
5.	Titik leleh	-95°C (178 K)
6.	Titik didih	69°C (342 K)
7.	Massa molar	58,08 g/mol
8.	Kelarutan	13 mg / L pada 20°C
9.	Densitas	0,6548 g / mL, cairan

Sumber : <http://wikipedia.org> (2009)

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan keluar atau proses pemisahan suatu bahan dari campurannya, biasanya dengan menggunakan pelarut. Pelarut polar akan melarutkan zat terlarut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan zat terlarut yang non polar juga atau disebut "*like dissolves like*" (Shriner, *et al.*, 1980).

Proses ekstraksi pada dasarnya dibedakan menjadi dua fase, yaitu fase pencucian dan fase ekstraksi. Pada fase pencucian terjadi penyatuan cairan ekstraksi, melalui rusaknya sel-sel zat yang diekstrak atau terusaknya dengan operasi penghalusan, langsung kontak dengan bahan pelarut. Diharapkan komponen sel yang terdapat dalam sel lebih mudah diambil atau dicuci. Sedangkan fase ekstraksi yaitu suatu peristiwa yang memungkinkan terjadinya pelintasan bahan pelarut ke dalam bagian dalam sel, sehingga bahan ekstraksi mencapai ke dalam sel. Dengan mengalirnya bahan pelarut ke dalam sel akan menyebabkan protoplasma membengkak, dan bahan kandungan sel akan

terlarut sesuai dengan kelarutannya (Voight, 1994). Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (<http://www.blogpribadi.com>).

Salah satu teknik ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan proses dimana simplisia yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat mudah larut akan melarut. Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Ansel, 1989).

2.4 Antibakteri

Antibakteri menurut Ganiswarna (1995) adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini berkembang bahwa antibakteri merupakan senyawa kimia yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan membunuh suatu mikroorganisme. Antimikrobia yang ideal menunjukkan sifat toksisitas selektif, toksisitas yang selektif merupakan fungsi reseptor yang spesifik yang dibutuhkan

untuk melekatnya obat atau karena hambatan biokimia yang terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang.

Antimikroba yang ideal menurut Jawetz, *et al.* (1995) harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut; (1) mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas (*broad spectrum antibacteria*), (2) tidak menimbulkan terjadinya resistensi dari mikroorganisme patogen, (3) tidak menimbulkan efek samping (*side effect*) yang buruk pada tubuh, seperti reaksi alergi, kerusakan syaraf, iritasi lambung, dan sebagainya, serta (4) tidak mengganggu keseimbangan flora normal tubuh seperti flora usus atau flora kulit.

Mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat ataupun membunuh bakteri menurut Pradhika (2008) antara lain sebagai berikut; (1) menghambat sintesis dinding sel, (2) merusak permeabilitas membran sel, (3) menghambat sintesis RNA (proses transkripsi), serta (4) menghambat sintesis protein (proses translasi penghambat replikasi DNA).

2.4.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram)

Penentuan aktivitas antimikroba suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan bila terpenuhi tiga syarat, yaitu (1) ekstrak tanaman harus bisa kontak dengan dinding sel mikroorganisme, (2) Kondisi pengujian diatur sedemikian rupa sehingga mikroorganisme dapat tumbuh saat tidak ada bahan antimikroba, dan (3) Ada parameter ukur tingkat pertumbuhan mikroorganisme (Hostettmann, 1991). Banyak metode yang dapat diterapkan untuk menentukan aktivitas antimikroba dimana masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan.

Beberapa bahan antimikroba tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorgaisme. Bahan antimikroba bersifat menghambat apabila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme. Salah satu cara untuk menguji bahan

antimikroba dapat dilakukan dengan uji cakram. Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).

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

2.4.2 Bakteri Uji Gram Negatif

Bakteri gram negatif mempunyai selaput luar yang mengandung lipopolisakarida serta pelapis peptidoglikan yang tipis yang terletak di dalam periplasma (kawasan antara selaput luar dan selaput sitoplasma), dan berlapis tiga (multi). Flagelum terikat di ujung sel (flagela monotrikus), dan terletak di seputar sel (flagela peritrikus). Tidak terdapat asam tekoat (Pelczar dan Chan, 1986).

Bakteri gram negatif umumnya lebih tidak peka terhadap daya kerja antibakteri bila dibandingkan dengan bakteri gram positif. Struktur dinding sel bakteri gram negatif kemungkinan berpengaruh terhadap masuknya molekul besar ke dalam sel. Struktur dinding sel bakteri gram positif hanya terdiri dari lapisan peptidoglikan dan asam teikoat. Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks, yakni pada bagian luar peptidoglikan terkandung tiga polimer yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida (Jawetz, *et al.*, 1995).

Hasil penelitian dengan menggunakan bakteri uji *S. aureus* sebagai gram positif dan *E. coli* sebagai gram negatif menunjukkan bahwa *E.coli* lebih tahan terhadap aktivitas antibakteri produk asam palmitat. Struktur dinding sel bakteri gram positif yang lebih sederhana memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja. Dinding sel yang kompleks menimbulkan hambatan bagi senyawa bioaktif seperti alkohol untuk menembus membran sel bakteri, hal ini dapat dilihat dari perbedaan lebar zona hambat antara bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (Nufailah, *et al.*, 2002).

2.4.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia Coli adalah salah satu kelompok bakteri koliform yang berbentuk batang, gram negatif, fakultatif anaerob, dan tidak mampu untuk membentuk spora. *Echerichia coli* dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 40°C, bersifat indol positif tidak dapat menggunakan sitrat, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37°C, bersifat merah metil (*methyl red*) positif, *voges-proskauer* (VP) negatif. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37 °C (Susanty, 2009). *Escherichia coli* memproduksi lebih banyak asam di dalam medium glukosa, memproduksi indol tetapi tidak memproduksi aceton, bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1:1 dan tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Fardiaz, 1992). Klasifikasi ilmiah bakteri *Escherichia coli* menurut Brooks, *et al.* (2005) adalah sebagai berikut :

Divisio : Protophyta
Subdivisio : Schizomycetea
Classis : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Familia : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*

Echerichia coli adalah salah satu grup koliform yang dapat memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 40°C, bersifat indol positif tidak dapat menggunakan sitrat, menghasilkan asam dari manitol pada suhu 37°C, bersifat merah metil (*methyl red*) positif, voges-proskauer (VP) negatif.^{16,17} Pada biakan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob dan tumbuh pada pembenihan biasa, misalnya pada biakan cair, agar gizi pembenihan Mac Conkey dan agar darah. Suhu optimum pertumbuhan adalah 37°C. (Susanty, 2009). Bakteri *Echerichia coli* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Bakteri *Escherichia coli* (google, 2010)

Escherichia coli memproduksi lebih banyak asam di dalam medium glukosa memproduksi indol tetapi tidak memproduksi aseton, bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1:1 dan tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sebaliknya *Enterobacter aerogenes* memproduksi asam lebih sedikit daripada aseton, tetapi tidak membentuk indol. Bakteri ini memproduksi CO₂ dan H₂ dengan perbandingan 1: 2 dan dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Fardiaz, 1992).

E. coli tumbuh pada suhu antara 10^o-40°C, dengan suhu optimum 37°C. pH optimum untuk pertumbuhannya adalah pada 7,0-7,5, pH minimum pada 4,0 dan maksimum pada pH 9,0. Nilai a_w minimum untuk pertumbuhan *E. coli* adalah 0,96. bakteri ini relatif sangat sensitif terhadap panas dan dapat

dinonaktifkan pada suhu pasteurisasi makanan atau selama pemasakan makanan (Supardi dan Sukamto, 1999).

2.4.2.2 *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang kecil-kecil yang mampu bergerak dan bersifat fakultatif anaerobik. *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri halofilik gram negatif. Bakteri ini tumbuh pada kadar NaCl optimum 3%, kisaran suhu 5°-43°C, pH 4.8 – 11 dan aw 0.94 – 0.99. Pertumbuhan berlangsung cepat pada kondisi suhu optimum (37 °C) dengan waktu generasi hanya 9–10 menit. *Vibrio* juga termasuk bakteri yang bersifat halofil, yaitu tumbuh dengan rentang toleransi salinitas 5-80 ppt dan tumbuh optimal pada salinitas 20-40 ppt. Masa inkubasi biasanya antara 12 – 24 jam, tetapi dapat berkisar antara 4-30 jam (Taslihan, 1992). Klasifikasi *Vibrio parahaemolyticus* menurut Anonymous (2008) adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria
Kingdom : Proteobacteria
Phylum : Gammaproteobacteria
Class : Vibrionales
Ordo : Vibrionaceae
Genus : *Vibrio*
Species : *Vibrio parahaemolyticus*

Seafood yang merupakan produk hasil laut, memberikan semua kondisi yang dibutuhkan oleh *Vibrio parahaemolyticus* untuk tumbuh dan berkembang biak yakni keberadaan garam, nutrisi yang baik serta pH dan a_w yang cocok sehingga *Vibrio parahaemolyticus* sering terdapat sebagai flora normal di dalam seafood. Mereka terkonsentrasi dalam saluran pencernaan moluska, seperti kerang, tiram dan mussel yang mendapatkan makanannya dengan cara mengambil dan menyaring air laut. Strain *Vibrio parahaemolyticus* patogen merupakan penyebab penyakit gastroenteritis yang disebabkan oleh produk hasil laut (seafood), terutama yang dimakan mentah, dimasak tidak sempurna

atau terkontaminasi dengan *seafood* mentah setelah pemasakan. Gastroenteritis berlangsung akut, diare tiba-tiba dan kejang perut yang berlangsung selama 48-72 jam dengan masa inkubasi 8-72 jam. Gejala lain adalah mual, muntah, sakit kepala, badan agak panas dan dingin. Pada sebagian kecil kasus, bakteri juga menyebabkan septicemia (Syamsir, 2008). Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Tokyo Institute of Technology, 2009)

Menurut Elfahrybimantara (2009), banyak *Vibrio* yang merupakan *zoonotic*, menyebabkan penyakit pada ikan dan *shellfish*, dan penyebab umum kematian antar kehidupan laut domestik. *Vibriosis* adalah salah satu penyakit paling utama pada budidaya ikan dan *shellfish* laut. *Vibrio* menyerang benih (*fingerlings*), juvenil dan ikan dewasa; serangan terjadi April atau Oktober ketika temperatur air berkisar 24°-26°C. Gejala ditandai oleh *exophthalmia*, *rosacea* dan luka pada dasar sirip dada dan *hemorrhagic gonads*.

2.5 Uji GCMS

Kromatografi merupakan metode pemisahan. Dibandingkan dengan metode pemisahan klasik seperti destilasi, kristalisasi, pengendapan ekstraksi, dan lain-lain, mempunyai kelebihan dalam pelaksanaan yang lebih sederhana. Penggunaan waktu yang singkat dan terutama mempunyai kepekaan serta

kemampuan memisahkan serta kemampuan pemisahan yang tinggi. Prosedur kromatografi dapat digunakan jika metode klasik tidak dapat dilakukan karena jumlah cuplikan rendah, kompleksitas campuran yang hendak dipisahkan atau sifat kekerabatan zat yang hendak dipisah. Kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi gas dapat dilakukan dalam laboratorium dan sangat sesuai dengan identifikasi dan pemeriksaan kemurnian senyawa obat dan campuran senyawa obat. Prosedur kromatografi tunggal dapat dibedakan menurut jenis pemisahan zat atau menurut jenis pemisahan zat atau menurut materi pemisahan yang digunakan. Seringkali berbagai prinsip pemisahan dijadikan satu. Untuk karakterisasi hasil pemisahan dikenal dengan parameter pengenalan (Roth dan Blaschke, 1985).

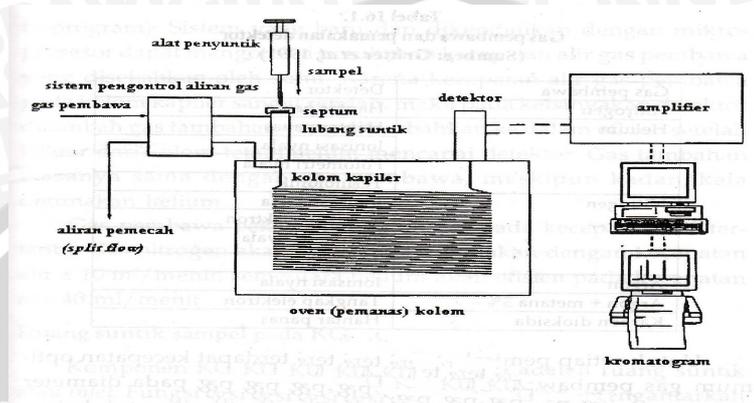
Kegunaan umum kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi gas dapat bersifat destruktif dan dapat bersifat non-destruktif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

Kromatografi gas disamping untuk tujuan analisis, juga sering digunakan untuk mempelajari struktur suatu komponen kimia, menentukan mekanisme dan kinetik dari reaksi-reaksi kimia, serta mengukur isothermal, sifat panas larutan, sifat panas penyerapan, energi bebas dari larutan dan atau penyerapan, koefisien aktifitas, dan tetapan difusi. Penerapan lainnya yang nyata adalah dalam bidang persiapan komponen murni atau fraksi-fraksi komponen yang berguna sebagai standart untuk penelitian-penelitian selanjutnya (Fardiaz, 1989).

2.5.1 Sistem Peralatan GC (*Gas Chromatography*)

Diagram skematik peralatan GC ditunjukkan oleh gambar di bawah ini, dengan komponen utama adalah: kontrol dan penyedia gas pembawa, ruang suntik sampel, kolom yang diletakkan dalam oven yang dikontrol secara

termostatik; sistem deteksi dan pencatat (*detector* dan *recorder*); serta komputer yang dilengkapi dengan perangkat pengolah data (Gandjar dan Rohman, 2007). Kondisi pengoperasian alat GC-MS pada suatu proses analisa dapat dilihat pada Tabel 5 dan alat Kromatografi Gas dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Gas Chromatography (wikipedia, 2006)

Tabel 5. Kondisi Pengoperasian GC-MS Untuk Analisis Sampel

Syarat Kondisi Gas Chromatography	
Kolom	DB-5ms; 25 m x 30 mm ID x 0,25 μ m
Arus Initial Mode	1 ml / menit, terus mengalir (fase gas)
Injeksi Mode	Berdenyut splitless
Jumlah injeksi	1 μ l
Temperatur Injeksi Port	290°C
Pulse Pressure & Time	35 psi, 0.5 min
Purge Flow & Sisa	20 ml / menit, 2 menit
Solvent Delay	5 menit
Temperatur Oven awal, Tunggu Sisa	50°C, 1 menit
Temperatur ramp 1, Plateau	30°C / menit, 280°C
Ramp Temperatur 2, Plateau	15°C / menit, 310°C
Final Tahan Sisa	4 menit

Sumber: (Arnestown and Gattersburg, 2009)

Prinsip kerja kromatografi didasarkan pada pemisahan campuran dua atau lebih senyawa yang berbeda yang terdistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu

kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pada umumnya solut akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya, kecuali jika ada interaksi khusus antara solut dengan fase diam. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50°-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi. Gas membawa sampel melalui kolom-kolom chromatographic, dan sampel dipisahkan pada temperatur mendidih dan afinitasnya pada kolom. Campuran diidentifikasi oleh timing pemisahan, dikenal dengan *retention time*. *Retention time* ini bersifat unik pada berbagai jenis sampel dan itu ditunjukkan pada kolom *chromatographic* (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.5.1.1 Fase Gerak Pada GC (Gas Chromatography)

Fase gerak pada GC juga disebut gas pembawa karena tujuan awalnya adalah untuk membawa solut ke kolom, karenanya gas pembawa tidak berpengaruh pada selektifitas. Syarat gas pembawa adalah: tidak reaktif, murni/kering karena kalau tidak murni akan berpengaruh pada detektor; dan dapat disimpan pada tangki yang bertekanan tinggi (biasanya merah untuk hidrogen, dan abu-abu untuk nitrogen) (Nazir, 1989).

Helium merupakan tipe gas pembawa yang sering digunakan karena memberikan efisiensi kromatografi yang lebih baik (mengurangi pelebaran pita). Pada dasarnya kecepatan aliran gas pembawa berbanding lurus dengan penampang kolom. Kecepatan aliran gas kira-kira 50-70 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 6 mm, 25-30 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 3 mm. Kolom kapiler memakai kecepatan gas yang rendah, yakni antara 0,2-2 ml/ menit (Gandjar dan Rohman, 2007).

Komponen-komponen sampel dialirkan melalui kolom dengan bantuan dorongan gas pengemban yang sesuai. Penggunaan gas sebagai fase bergerak menyebabkan keseimbangan antara fase bergerak dan fase stasioner berlangsung dengan cepat, menyebabkan metode kromatografi gas ini performansinya tinggi. Fase bergerak dari gas mempunyai tahanan aliran yang rendah, menyebabkan dengan kolom yang panjang dapat dihasilkan pemisahan yang baik (Fardiaz, 1989).

2.5.1.2 Ruang Suntik Sampel Pada GC (*Gas Chromatography*)

Komponen GC yang utama selanjutnya adalah ruang suntik atau *inlet*. Fungsi dari ruang suntik adalah untuk mengantarkan sampel ke dalam aliran gas pembawa. Ruang suntik harus dipanaskan terlebih dahulu (terpisah dari kolom) dan biasanya 10° - 15° C lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel akan menguap segera setelah sampel disuntikkan.

Pada kolom kapiler, sampel yang diperlukan sangat sedikit, bahkan sampai $0,01 \mu\text{l}$. Karena pengukuran secara akurat sulit dilakukan jika sampel yang disuntikkan terlalu kecil, maka ditempuh suatu cara untuk memperkecil ukuran sampel setelah penyuntikan. Salah satu cara yang dilakukan adalah dengan menggunakan teknik pemecah suntikan (*split injection*). Sampel yang ideal dalam kromatografi gas adalah sampel yang hanya mengandung senyawa yang akan dipisahkan dalam kolom, dan dalam banyak hal juga pelarut yang mudah menguap yang melarutkan sampel tersebut. Konsentrasi sampel biasanya berkisar antara 1-10% (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.5.1.3 Kolom Pada GC (*Gas Chromatography*)

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Oleh karena itu, kolom merupakan komponen sentral pada GC. Ada dua jenis kolom pada GC yaitu:

- Kolom Kemas

Jenis kolom ini terbuat dari gelas atau logam yang tahan karat atau dari tembaga dan aluminium. Panjang kolom jenis ini adalah 1-5 meter dengan diameter dalam 1-4 mm. Efisiensi kolom akan meningkat dengan semakin bertambah halusya partikel fase diam ini. Ukuran partikel fase diam biasanya berkisar antara 60-80 mesh (250-170 μm).

- Kolom Kapiler

Kolom kapiler memiliki rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa (*tube*). Fase diam melekat mengelilingi dinding dalam kolom. Fase diam yang dipakai di kolom kapiler dapat bersifat polar, semi polar maupun non polar.

Banyak bahan kimia yang digunakan sebagai fase diam antara lain: squalen, DEGS (*Dietilglukogen suksinat*), OV-17 (*phenil methyl silicone oil*). Semakin tipis lapisan yang menyalut sebagai fase diam, maka semakin tinggi suhu operasionalnya. Untuk lapisan salut $< 1\mu\text{m}$, suhu operasional dapat mencapai 460°C , sementara itu suhu minimalnya dapat mencapai -60°C (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.5.1.4 Detektor Pada GC (*Gas Chromatography*)

Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom tempat keluar fase gerak (gas pembawa) yang membawa komponen hasil pemisahan. Detektor pada kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik (Nazir, 1989).

Pada garis besarnya detektor pada GC termasuk detektor deferensial, dalam arti respon yang keluar dari detektor memberikan relasi yang linier dengan kadar atau laju aliran massa komponen yang teresolusi. Kromatogram yang

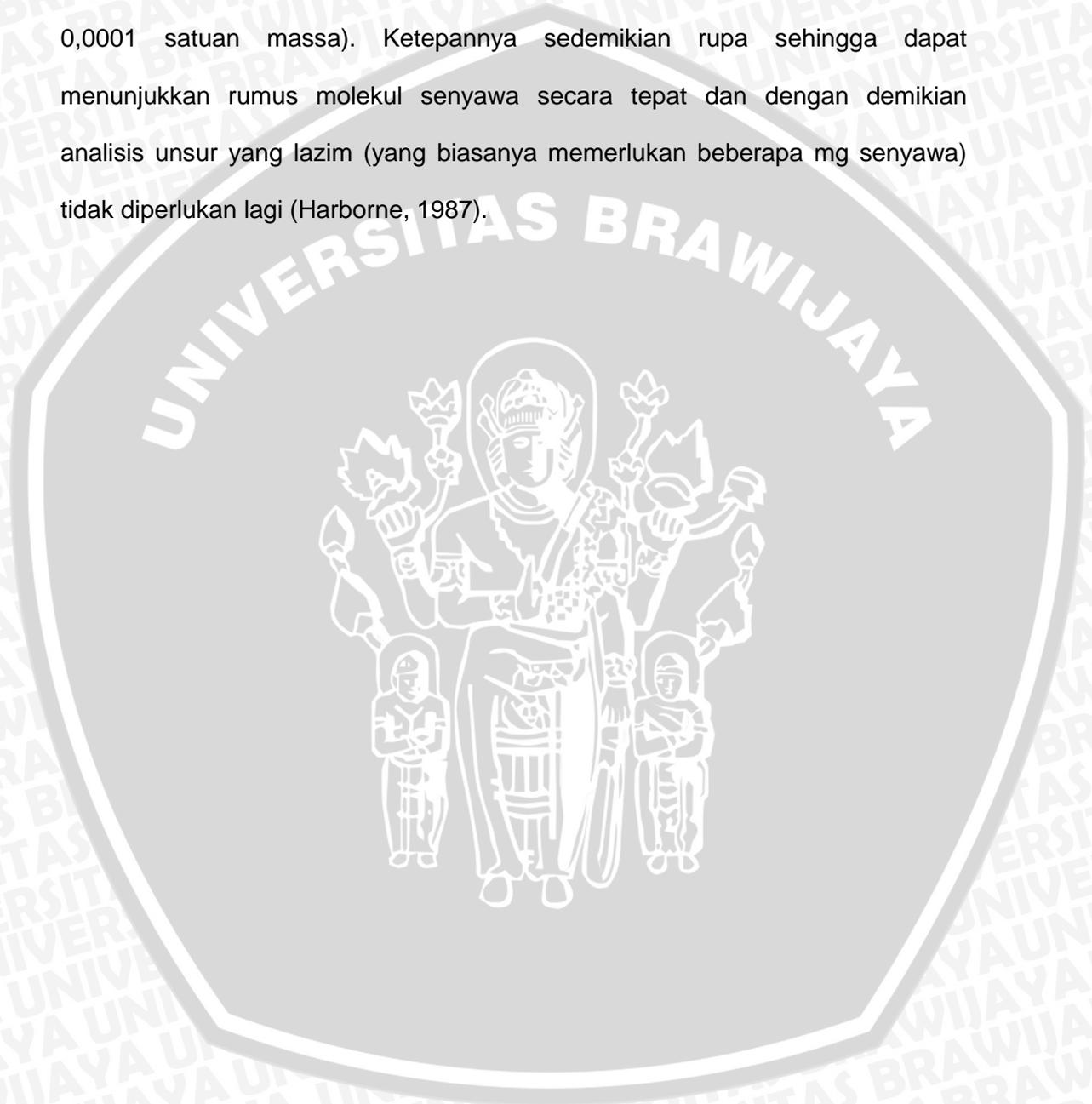
merupakan hasil pemisahan fisik komponen-komponen disajikan oleh detektor sebagai deretan luas puncak terhadap waktu. Waktu tambat tertentu dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data kualitatif, sedangkan luas puncak dalam kromatogram dapat digunakan sebagai data kualitatif yang keduanya telah dikonfirmasi dengan senyawa baku (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.5.2 Spektrometri Massa (SM)

Pada dasarnya spektrometri massa adalah penguraian senyawa organik dan perekaman pola fragmentasi menurut massanya. Uap cuplikan berdifusi ke dalam sistem spektrometer massa yang bertekanan rendah, lalu diionkan dengan energi yang cukup untuk memutuskan ikatan kimia. Ion bermuatan positif yang terbentuk dipercepat dalam medan magnet yang menyebarkan ion tersebut dan memungkinkan pengukuran kelimpahan nisbi ion yang mempunyai nisbah massa terhadap muatan tertentu. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa merupakan grafik spektrum massa yang terdiri atas sederetan grafis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa yang berlainan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Sebagai pelengkap perangkat analisis GC-MS, spektrometri massa berfungsi menembaki bahan yang sedang diteliti dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu fragmen. Terpisahnya fragmen didasarkan pada massanya (lebih tepat, massa dibagi muatan). Keuntungan utama spektrometri massa sebagai metode analisis yaitu metode ini lebih sensitif dan spesifik untuk identifikasi senyawa yang tidak diketahui. Hal ini disebabkan adanya pola fragmentasi yang khas sehingga dapat memberikan informasi mengenai bobot molekul dan rumus molekul. Puncak ion molekul penting dikenali karena memberikan bobot molekul senyawa yang diperiksa. Puncak paling kuat pada spektrum disebut puncak dasar (*base peak*) dan dinyatakan dengan nilai 100% (Silverstein, 1991).

Pada kebanyakan proses analisa senyawa dengan menggunakan spektrometri massa, sebagian kecil dari senyawa induk tahan terhadap proses penguapan dan akan direkam sebagai puncak ion molekul atau ion induk. Lalu, massa ion induk dan ion lainnya dapat diukur dengan sangat tepat (sampai 0,0001 satuan massa). Ketepannya sedemikian rupa sehingga dapat menunjukkan rumus molekul senyawa secara tepat dan dengan demikian analisis unsur yang lazim (yang biasanya memerlukan beberapa mg senyawa) tidak diperlukan lagi (Harborne, 1987).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

3.1.1.1 Rumpuk laut

Rumpuk laut *Sargassum polycystum* segar diperoleh dari perairan Kabupaten Sumenep, Pulau Madura, Jawa Timur. Rumpuk laut dipanen dari daerah budidaya dan pada saat pemanenan bahan dicuci dengan air laut. Sampel dicuci untuk membersihkan sisa lumpur, pasir dan kotoran lainnya yang masih melekat.

Sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik warna hitam untuk menghindari kontak dengan sinar matahari. Sampel dimasukkan ke dalam coolbox lalu diberi es balok dan bagian luar coolbox disegel dengan lackban untuk mempertahankan suhu rendah (*cold chain system*) dalam coolbox selama proses transportasi. Selang waktu pengangkutan dari tempat pemanenan ke laboratorium adalah semalam (12 jam). Rumpuk laut yang digunakan yaitu *Sargassum polycystum* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. *Sargassum polycystum*

3.1.1.2 Bahan Pelarut Maserasi

Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi antibakteri rumput laut *Sargassum polycystum* yaitu pelarut n-heksan teknis sebagai pelarut non polar, pelarut aceton teknis sebagai pelarut yang bersifat semi polar, serta pelarut metanol teknis yang merupakan pelarut polar. Ketiga pelarut teknis yang digunakan memiliki konsentrasi yang sama yakni 96%, hal ini bertujuan untuk menghindari pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap kadar ekstrak yg didapat (variabel kontrol). Bahan lain yang digunakan adalah aquades yang digunakan pada waterbath pada saat proses pengentalan ekstraksi (pemisahan pelarut dari ekstrak) dengan *vacum rotary evaporator*.

3.1.1.3 Bahan uji cakram

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji cakram adalah kertas cakram (*paper disc*) yang masing-masing berdiameter 6 mm, *cotton swap*, biakan murni bakteri *E. coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*, media TSA (*tripton soy agar*) untuk menumbuhkan *E. coli*, dan media TCBSA (*thiosulfat citrate bilesalt sucrosa agar*) untuk menumbuhkan *Vibrio parahaemolyticus*. Semua bahan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kepadatan bakteri adalah 10^9 cfu/ml.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam maserasi (ekstraksi) senyawa antibakteri dari *Sargassum polycystum* adalah baskom, pisau, talenan, timbangan analitik, beaker glass 300 ml, erlenmayer 300ml, corong glass, spatula, gelas ukur serta lemari es untuk menyimpan sampel. Alat-alat yang digunakan pada saat pemisahan pelarut dari ekstrak adalah 1 unit *rotary vacum evaporator* dan botol vial. Adapun alat-alat yang digunakan untuk uji cakram adalah autoklaf untuk sterilisasi alat, micro pipet, cawan petri, bunsen, dan

inkubator. Untuk identifikasi kandungan senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak digunakan 1 unit alat GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*)

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode Eksperimen

Metode awal yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki (Suryasubrata, 1989). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen (Nazir, 1988). Menurut Singarimbun dan Effendi (1983), penelitian eksperimental lebih mudah dilakukan di laboratorium karena alat-alat yang khusus dan lengkap dapat tersedia, dimana pengaruh luar dapat dengan mudah dicegah selama eksperimen. Penelitian dapat dilakukan tanpa atau dengan kelompok pembanding.

Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari penggunaan pelarut yang berbeda kepolarannya terhadap kualitas antibakteri hasil ekstraksi. Hipotesis ini dibuktikan dengan melakukan uji daya penghambatan antibakteri dari senyawa yg berhasil diekstraksi oleh jenis pelarut yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri uji *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Indikator yang ingin dicapai adalah adanya perbedaan diameter zona bening (zona penghambatan bakteri) dimana semakin lebar zona bening, maka semakin efektif senyawa kimia dari sampel yang berhasil diekstraksi.

3.2.2 Metode Deskriptif

Metode kedua yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif. Metode deskriptif yaitu metode yang menggambarkan suatu keadaan

atau kejadian. Penelitian deskriptif hanya akan melukiskan keadaan objek atau persoalannya dan tidak dimaksudkan untuk mengambil kesimpulan yang berlaku umum. Dalam hal ini penelitian deskriptif merupakan akumulasi data dasar, dan tidak perlu menerangkan mestest hipotesis, membuat ramalan atau mendapatkan makna dan implikasi (Suryabrata, 1983).

Metode kedua dalam penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak rumput laut yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu dengan menggunakan metode Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC-MS).

3.2.3 Variabel Penelitian

Menurut Surachmad (1994), ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penggunaan jenis pelarut yang berbeda pada saat ekstraksi yaitu heksan 96 %, acetone 96% dan metanol 96 %. Variabel terikat penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm.

3.2.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian uji cakram yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yakni 3 perlakuan dengan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* yang dimaserasi dengan pelarut yang berbeda-beda dan 3 kontrol pelarut yang digunakan sebagai pembanding. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan diuji daya hambatnya dengan 2 jenis bakteri uji secara duplo.

Perlakukan:

A : Kontrol metanol

B : Kontrol acetone

C : Kontrol heksan

D : *Sargassum* pengekstrak metanol

E : *Sargassum* pengekstrak acetone

F : *Sargassum* pengekstrak heksan

Tabel 6. Rancangan Penelitian (RAL)

Jenis pelarut	Ulangan		
	1	2	3
A	A1	A2	A3
B	B1	B2	B3
C	C1	C2	C3
D	D1	D2	D3
E	E1	E2	E3
F	F1	F2	F3

3.2.5 Parameter Uji

Parameter yang dilakukan adalah parameter kuantitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter daerah hambatan yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Sebagai pembandingan (kontrol) dilakukan pengukuran zona hambat dari masing-masing pelarut untuk mengetahui apakah zona hambat yang dihasilkan berasal dari daya antibakteri ekstrak itu sendiri atau berasal dari pelarutnya yang memang hakikatnya sudah memiliki daya antibakteri.

3.2.6 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1% dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNJ pada taraf

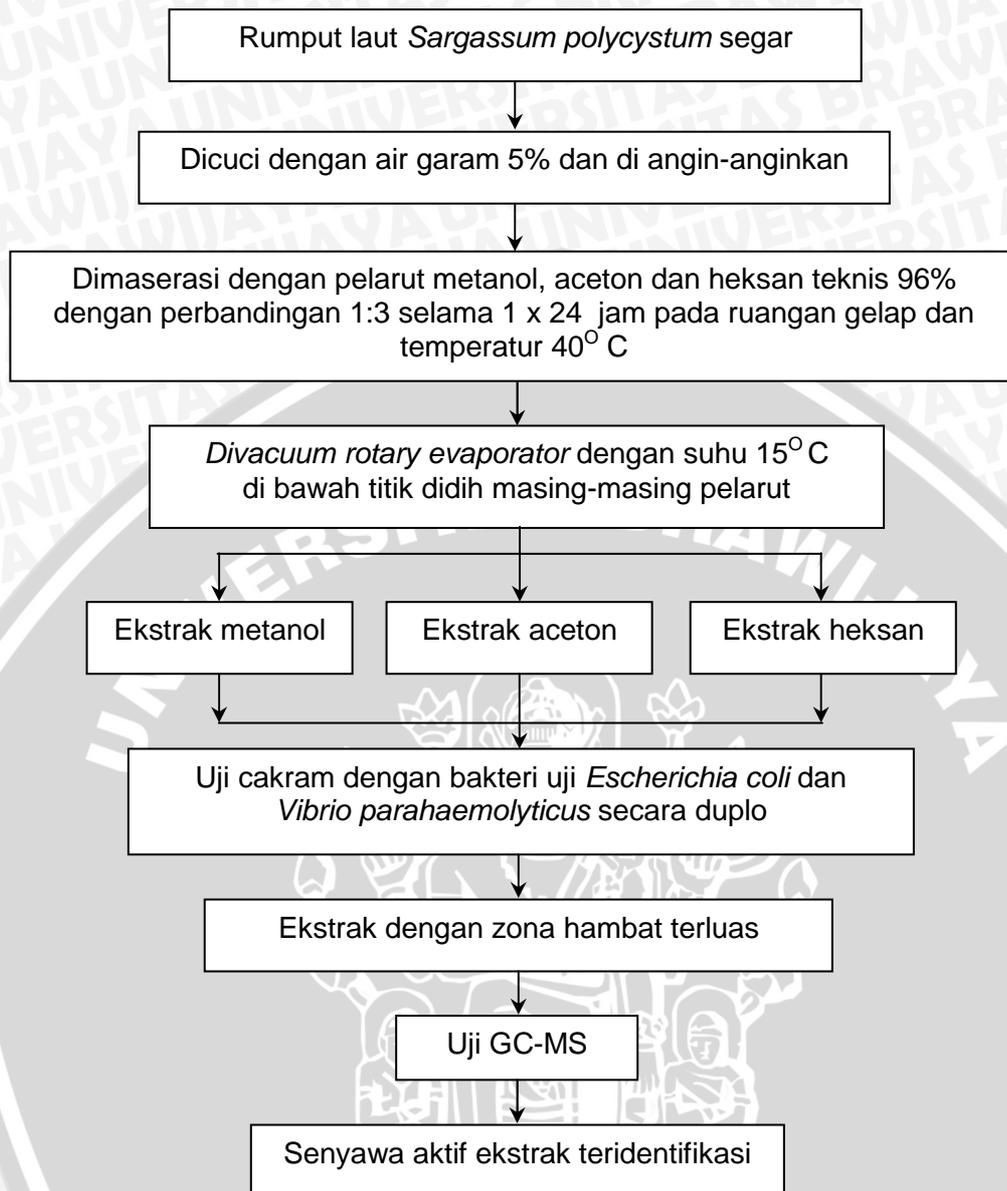
5 % untuk mengetahui perlakuan terbaik, dalam hal ini jenis pelarut yang digunakan.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1. Pembuatan Ekstrak *Sargassum polycystum*

Rumput laut *Sargassum polycystum* segar diperoleh dari perairan Kabupaten Sumenep, Pulau Madura, Jawa Timur. Rumput laut segar dicuci dan dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan menggunakan air garam 5% kemudian diangin-anginkan sekitar 1 jam. Sampel dipotong kecil-kecil sekitar 1 cm lalu diblender untuk memperkecil ukuran partikel sehingga mudah diekstraksi. Sampel dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol, aceton dan heksana teknis masing-masing konsentrasi 96% dengan perbandingan 1:3 selama 1 X 24 jam. Maserasi dilakukan pada temperatur 40° C di dalam ruangan gelap (inkubator) sambil sesekali dilakukan pengocokan (penghomogenan). Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Sampel yang telah dimaserasi disaring dengan kertas saring lalu dikentalkan dengan cara memisahkan pelarut dari ekstrak dengan menggunakan *vacum rotary evaporator*.

Proses pemisahan pelarut dilakukan dengan alat *vacum rotary evaporator* tujuannya agar pelarut dapat dipisahkan pada tekanan tinggi dan suhu yang lebih rendah daripada suhu titik didih masing-masing pelarut yang digunakan sehingga antibakteri tidak rusak (mendidih). Ekstrak ditampung dalam botol vial sehingga diperoleh ekstrak metanol, aceton dan heksan yang bebas dari pelarut. Skema kerja pembuatan ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Flowchart Pembuatan Ekstrak *Sargassum polycystum*

3.3.2 Uji Cakram

Prosedur uji cakram yang distandardisasikan (Kirby-Bauer, 1966) merupakan cara untuk menentukan sensitivitas antibakteri. Sensitivitas suatu bakteri terhadap antibakteri ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk. Langkah pertama yang dilakukan pada uji cakram adalah menyiapkan media pertumbuhan bakteri uji. Media yang digunakan ada 2, yakni media TCBSA yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

dan media TSA yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Escherichia coli*. Langkah-langkah pembuatan media TCBSA dapat dilihat pada Lampiran 1, sedangkan prosedur pembuatan media TSA dapat dilihat pada Lampiran 2.

Kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang tidak ditumbuhi oleh mikroba termasuk adanya daerah jernih di sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

Untuk mengetahui konsentrasi yang memberikan diameter daerah hambatan terbesar dilakukan uji cakram, yaitu pengujian antimikroba dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Dengan demikian dapat diketahui efektifitas atau pengaruh perlakuan terhadap diameter daerah hambatan bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Adapun tahapan-tahapan dalam pelaksanaan uji cakram metode Kirby-Bauer (1966) adalah sebagai berikut:

- Lempeng agar TSA dan TCBSA ditandai dengan nama, tanggal dan mikroorganisme yang akan diuji.
- Kapas Lidi (*cotton swab*) steril dicelupkan dalam suspensi biakan uji, dengan OD : 0,1 CFU/ml, kemudian kapas lidi diputar pada dinding tabung (diperas) agar cairan tidak menetes dari bagian kapas tersebut.
- Sebar mikroorganisme pada seluruh permukaan lempeng agar dengan cara dioleskan, untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, kapas lidi dioleskan secara mendatar, kemudian diputar lempeng agar 90° dan dibuat olesan kedua, dengan lempeng agar diputar 45° dan dibuat olesan ketiga.



- Lempeng agar dibiarkan mengering kurang lebih 5 menit, kemudian tempatkan kertas cakram yang sudah direndam dengan sampel yang diujikan pada permukaan lempeng agar.
- Dalam 1 lempeng agar dapat digunakan 5-6 macam dosis perlakuan, jarak antara kertas cakram harus cukup luas, sehingga wilayah jernih tidak saling berhimpitan yang nantinya akan menyulitkan dalam proses pengukuran zona hambat.
- Kertas cakram ditekan dengan pinset, tidak perlu terlalu keras karena akan merusak permukaan agar.
- Lempeng yang sudah ditempelkan kertas cakram diinkubasi pada suhu optimal tumbuh dari bakteri patogen yang sedang diujikan.
- Setelah bakteri uji sudah tumbuh merata, dan terlihat adanya zona jernih di permukaan agar, maka luas zona jernih dapat diukur dengan mengukur diameternya.

3.3.3 Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan terhadap hasil ekstrak yang menunjukkan daya antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injektor 290° C, suhu awal oven 100° C, laju kenaikan suhu 10° C/menit, dan suhu akhir oven 290° C. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Ekstraksi *Sargassum polycystum*

Proses ekstraksi dengan sampel sebanyak 200 gram dan perbandingan pelarut 1:3 pada 3 kali ulangan menghasilkan ekstrak rata-rata 65 ml pada ekstraksi dengan metanol, 36 ml pada ekstraksi dengan aceton dan 7 ml pada ekstraksi dengan heksan. Proses ekstraksi dengan pelarut metanol menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat keruh agak kehijauan. Proses ekstraksi dengan pelarut aceton menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat, sedangkan proses ekstraksi dengan heksan menghasilkan senyawa yang agak kental berwarna kuning cerah. Hasil ekstraksi dari *Sargassum polycystum* dengan pelarut metanol, aceton dan heksan disajikan dalam Gambar 9.



Gambar 10. Hasil Ekstraksi dari *Sargassum polycystum* dengan Pelarut Aceton (Kiri), Heksan (Tengah) dan Metanol (Kanan)

4.1.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Diantara ketiga pelarut yang digunakan dalam penelitian yakni metanol, aceton dan heksan, heksan merupakan pelarut yang paling baik untuk ekstraksi senyawa antibakteri *Sargassum polycystum*. Hal ini dapat dilihat dari hasil perhitungan statistik data zona penghambatan bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio*

parahaemolyticus dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Notasi BNJ 5% perbandingan diameter zona hambat pelarut dan ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Notasi BNJ 5% Perbandingan Diameter Zona Hambat Pelarut dan Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap *Escherichia coli*

Rata-rata diameter	A (6,00)	C (6,00)	B (6,01)	D (6,07)	E (6,24)	F (7,39)
A (6,00)	-	-	-	-	-	-
C (6,00)	-	-	-	-	-	-
B (6,01)	0,01	0,01	-	-	-	-
D (6,07)	0,07*	0,07*	0,06	-	-	-
E (6,24)	0,24*	0,24*	0,23*	0,17*	-	-
F (7,39)	2,39*	0,39*	1,38*	1,32*	1,15*	-
Notasi BNT _{0,05} = 0,07	a	a	a	b	c	d

Ket: * = Selisih sepasang nilai tengah > BNJ_{0,05}

A = Kontrol metanol

B = Kontrol acetone

C = Kontrol heksan

D = *Sargassum* pengekstrak metanol

E = *Sargassum* pengekstrak acetone

F = *Sargassum* pengekstrak heksan

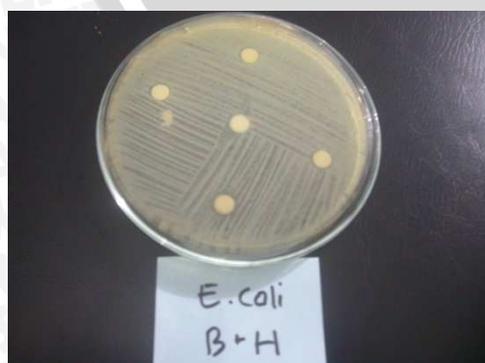
Pada analisis sidik ragam (ANOVA) uji cakram ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, didapatkan hasil bahwa heksan merupakan pelarut yang paling baik digunakan untuk mengekstraksi senyawa antibakteri. Notasi BNJ 5% perbandingan diameter zona hambat pelarut dan ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Notasi BNJ 5% Perbandingan Diameter Zona Hambat Pelarut dan Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap *Vibrio parahaemolyticus*

Rata-rata diameter	A (6,01)	B (6,01)	C (6,01)	D (6,10)	E (6,27)	F (7,46)
A (6,01)	-	-	-	-	-	-
B (6,01)	-	-	-	-	-	-
C (6,01)	-	-	-	-	-	-
D (6,10)	0,09	0,09	0,09	-	-	-
E (6,27)	0,26*	0,26*	0,26*	0,17*	-	-
F (7,46)	1,45*	1,45*	1,45*	1,36*	1,19*	-
Notasi BNT _{0,05} = 0,09	a	a	a	a	b	c

Ket: * = Selisih sepasang nilai tengah > BNJ_{0,05}
 A = Kontrol metanol
 B = Kontrol acetone
 C = Kontrol heksan
 D = *Sargassum* pengekstrak metanol
 E = *Sargassum* pengekstrak acetone
 F = *Sargassum* pengekstrak heksan

Senyawa antibakteri yang diekstraksi dengan pelarut heksan menghasilkan diameter zona penghambatan yang lebih besar jika dibandingkan dengan pelarut methanol dan acetone terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Ekstrak yang dimaserasi dengan heksan hanya memberikan zona penghambatan rata-rata 7,39 mm terhadap *Escherichia coli* dan sedangkan zona penghambatan rata-rata 7,46 mm terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Perbandingan diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio prahaemolyticus* dapat dilihat pada Gambar 11 dan Gambar 12.



(a)



(b)

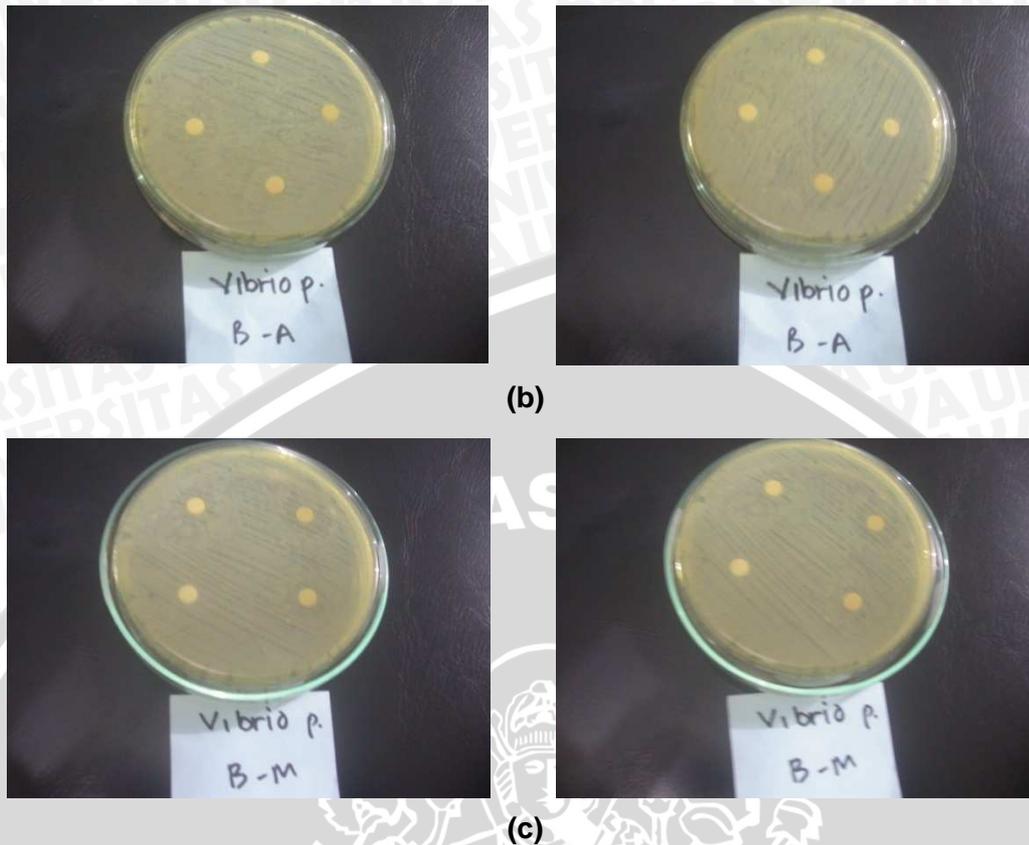


(c)

Gambar 11. Perbandingan Zona Hambat Ekstrak Antibakteri *Sargassum polycystum* yang Dimaserasi dengan Pelarut Heksan (a), Aceton (b) dan Metanol (c) Terhadap *Escherichia coli*



(a)



Gambar 12. Perbandingan Zona Hambat Ekstrak Antibakteri *Sargassum polycystum* yang Dimaserasi dengan Pelarut Heksan (A), Aceton (B) dan Metanol (C) Terhadap *Vibrio parahaemolyticus*

4.1.3 Intensitas Kepekaan Bakteri

Kepekaan bakteri terhadap suatu zat antibakteri dapat diketahui dengan cara membandingkan diameter zona hambatan yang didapat pada uji cakram dengan ukuran daerah hambatan antibiotika dan khemoterapetika yang telah ada. Berikut adalah daftar ukuran daerah hambatan berbagai antibiotika dan khemoterapetik.

Tabel 9. Diameter Zona Hambatan Antibiotika dan Khemoterapetika.

Antibiotika/ khemoterapetika	Kekuatan cakram	Diameter daerah hambatan (mm)		
		Resisten	Agak resisten	Peka
Ampisiin				
-Batang gram negative dan enterokokus	10 µg	11 atau kurang	12-13	14 atau lebih
- Stafilokokus dan jasad renik yang peka terhadap penisilin	10 µg	20 atau kurang	21-28	29 atau lebih
- Haemophilus				20 atau lebih
Basitrasin	10 satuan	8 atau kurang	9-12	13 atau lebih
Sefaloridin	30 µg	11 atau kurang	12-15	16 atau lebih
Sefalotin	30 µg	14 atau kurang	15-17	18 atau lebih
Khloramfenikol	30 µg	12 atau kurang	13-17	18 atau lebih
Kolistin	10 µg	8 atau kurang	9-10	11 atau lebih
Eritromisin	15 µg	13 atau kurang	14-17	18 atau lebih
Gentamisin	10 µg			13 atau lebih
Kenamisin	30 µg	13 atau kurang	14-17	18 atau lebih
Linkomisin	2 µg	9 atau kurang	10-14	15 atau lebih
Metisilin	5 µg	9 atau kurang	10-13	14 atau lebih
Nafsilin dan Oxalin " Nalidixic acid"	1 µg 30 µg	10 atau kurang 13 atau kurang	11-12 14-18	13 atau lebih 19 atau lebih
Neomisin	30 µg	12 atau kurang	13-16	17 atau lebih
Novobiosin	30 µg	17 atau kurang	18-21	22 atau lebih
Nitrofurantoin	300 µg	14 atau kurang	15-16	17 atau lebih
Oleandomisin	15 µg	11 atau kurang	12-16	17 atau lebih
Penisilin G				
- <i>Staphylococcus</i>	10 satuan	20 atau kurang	21-28	29 atau lebih
- Lain jasad renik	10 satuan	11 atau kurang	12-21	22 atau lebih
Polimixin B	300 unit	8 atau kurang	9-11	12 atau lebih
Streptomisin	10 µg	11 atau kurang	12-14	15 atau lebih
Sulfanomida	300 µg	12 atau kurang	13-16	17 atau lebih
Tetrasiklin	30 µg	14 atau kurang	15-18	19 atau lebih
Vankomisin	30 µg	9 atau kurang	10-11	12 atau lebih

Sumber: Bonang dan Enggar (1982)

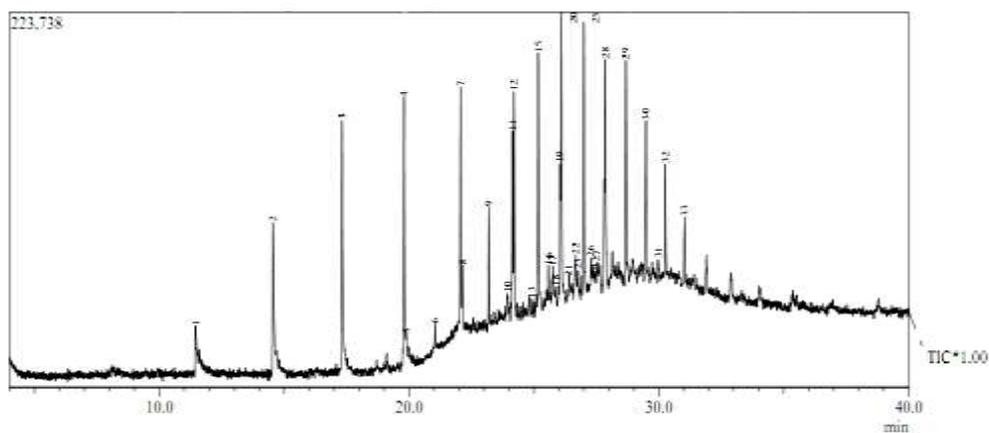
Diameter zona hambatan antibakteri dari *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *E. coli* dapat dibandingkan dengan diameter zona hambatan dari antibiotik yang biasanya digunakan terhadap bakteri *E. coli* dalam hal ini adalah kolistin. *E. coli* dikatakan resisten terhadap kolistin jika membentuk diameter zona hambatan 8 mm. Dikatakan agak resisten atau intermediate jika membentuk diameter zona hambatan 9-10 mm. Dikatakan peka jika terbentuk

zona hambatan 11 mm atau lebih. Perlakuan terbaik dari uji cakram dari ekstrak *Sargassum polycystum* segar yang diekstraksi menggunakan pelarut heksan memiliki diameter zona hambatan rata-rata adalah 7,39 mm. Hal ini berarti antibakteri dari ekstrak *Sargassum polycystum* segar tidak peka terhadap bakteri *E. coli*.

Diameter zona hambatan antibakteri dari *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dapat dibandingkan dengan diameter zona hambatan dari antibiotik yang biasanya digunakan terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dalam hal ini adalah tetrasiklin. *Vibrio parahaemolyticus* dikatakan resisten terhadap tetrasiklin jika membentuk diameter zona hambatan 14 mm. Dikatakan agak resisten atau intermediate jika membentuk diameter zona hambatan 15-18 mm. Dikatakan peka jika terbentuk zona hambatan 19 mm atau lebih. Perlakuan terbaik dari uji cakram dari ekstrak *Sargassum polycystum* segar yang diekstraksi menggunakan pelarut heksan memiliki diameter zona hambatan rata-rata adalah 7,46 mm. Hal ini berarti antibakteri dari ekstrak *Sargassum polycystum* segar tidak peka terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

4.1.4 Analisis GC-MS

Analisis senyawa antibakteri dengan metode GC-MS terhadap ekstrak *Sargassum polycystum* dengan pelarut heksan menghasilkan 33 tampilan peak dengan 47 jenis senyawa antibakteri berhasil diidentifikasi dari seluruh peak tersebut. Tampilan kromatogram Hasil GC-MS disajikan pada Gambar 12, sedangkan jenis-jenis senyawa yang berhasil teridentifikasi disajikan pada Tabel 10.



Gambar 13. Hasil GC-MS Ekstrak *Sargassum polycystum* dengan Pelarut Heksan

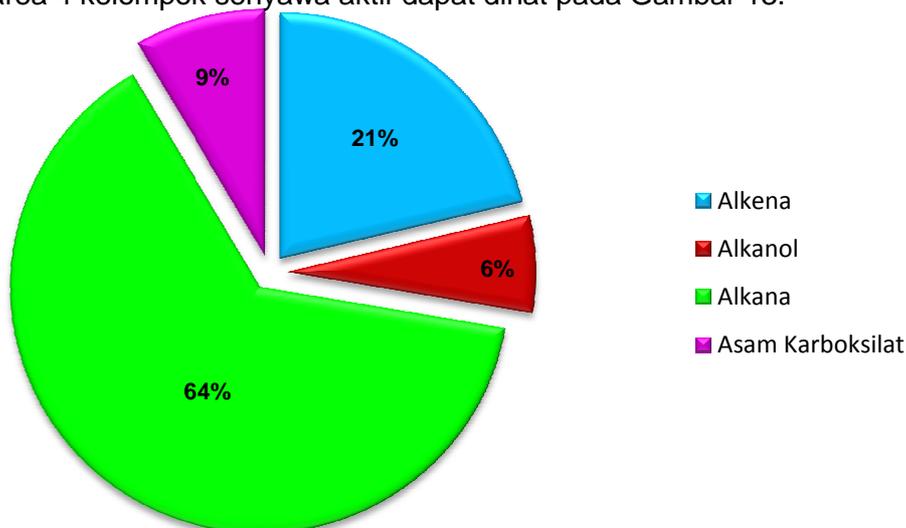
Tabel 10. Senyawa Antibakteri Hasil GC-MS Ekstrak *Sargassum polycystum* dengan Pelarut Heksan

No	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak	Area (%)
1	1-Tetradecene	C ₁₄ H ₂₈	196	1	0,54
2	1-Pentadecene	C ₁₅ H ₃₀	210	1,2	1,33
3	1-Dodecene	C ₁₂ H ₂₄	168	1	0,27
4	1-Hexadecene	C ₁₆ H ₃₂	224	2	2,12
5	1-Heptadecene	C ₁₇ H ₃₄	238	2,3	2,37
6	1-Octadecene	C ₁₈ H ₃₆	252	2,3,4,11,19	6,6
7	1-Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	266	3,7,11,19	4,49
8	1-Docosene	C ₂₂ H ₄₄	308	3,4,7,11	4,78
9	3-Eicosene	C ₂₀ H ₄₀	280	4,7	5,25
10	1-Tricosanol	C ₂₃ H ₄₈ O	340	4	1,44
11	Nonane	C ₁₃ H ₂₈	184	5	0,30
12	Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	198	5,6	0,4
13	Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	226	6,8,21	0,96
14	Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	268	6,12,15,17,20	6,26
15	Dodecane	C ₁₅ H ₃₂	212	6,10,18,31	0,46
16	1-Nonadecanol	C ₁₉ H ₄₀ O	284	7	1,18
17	Undecane	C ₁₃ H ₂₈	184	8,13	0,43
18	Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	240	8,12,13,15,22	2,92
19	Heptacosane	C ₂₇ H ₅₆	380	9,17,25,28,29,32	5,6
20	Tricosane	C ₂₃ H ₄₈	324	9,26	1,16
21	Octadecane	C ₁₈ H ₃₈	254	9,10,12,20,26	3,88
22	Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282	9,20	3,12
23	Tridecane	C ₁₄ H ₃₀	198	10,21,23	0,6
24	Pentadecane	C ₁₉ H ₄₀	268	10,23	0,22
25	Octane	C ₁₁ H ₂₄	156	10	0,12
26	Cyclotetracosane	C ₂₄ H ₄₈	336	11,19	1,42

Lanjutan tabel 10

27	Heneicosane	$C_{21}H_{44}$	296	12,15,28	3,9
28	Dodecylcyclohexane	$C_{18}H_{36}$	252	14	0,07
29	Cyclohexane	$C_{12}H_{24}$	168	14,27	1,1
30	Tridecylcyclohexane	$C_{19}H_{38}$	266	14	0,07
31	Octacosane	$C_{28}H_{58}$	394	15	1,19
32	1,2-Benzenedicarboxylic	$C_{24}H_{38}O_4$	390	16	0,74
33	Di-n-octyl phthalate	$C_{24}H_{38}O_4$	390	16	0,18
34	Docosane	$C_{22}H_{46}$	310	17,21,32	1,78
35	Heptane	$C_{14}H_{30}$	230	18	0,11
36	Nonanal	$C_9H_{18}O$	142	18	0,22
37	Mebutamate	$C_{10}H_{20}N_2O_4$	232	18	0,11
38	Cyclodocasane	$C_{24}H_{48}$	336	19	0,57
39	Decane	$C_{12}H_{26}$	170	22,23	0,64
40	Tetratetracontane	$C_{44}H_{90}$	618	22,25,28,29,30,32 ,33	14,9 6
41	Cyclopentane	$C_{26}H_{52}$	364	24	0,52
42	Pentatriacontane	$C_{35}H_{72}$	492	25,26,29,30,32	6,14
43	Pentacosane	$C_{25}H_{52}$	352	26	0,29
44	4-n-dodecylcyclohexanone	$C_{18}H_{34}$	266	27	0,47
45	7-oxabicyclo	C_7H_{12}	112	27	0,47
46	Hexatriacontane	$C_{36}H_{74}$	507	28,33	2,6
47	Tritetracontane	$C_{43}H_{88}$	604	33	0,43

Berdasarkan gugus fungsi dan ada tidaknya ikatan rangkap, 47 jenis senyawa yang berhasil diidentifikasi dari seluruh *peak* dapat dikelompokkan ke dalam 4 golongan, yakni alkana, alkena, alkanol, dan asam karboksilat. Diagram *pie* luas area 4 kelompok senyawa aktif dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 14. Persentase % Area Alkana, Alkena, Alkanol, dan Asam Karboksilat Dalam Ekstrak

Dari 33 peak yang teridentifikasi sejumlah 12 peak memiliki luas area di atas 3 %, antara lain *peak* ke-2, 3, 4, 7, 11, 12, 15, 20, 25, 28, 29 dan 30. Dari 12 peak terluas tersebut terdapat 13 senyawa antibakteri yang berhasil diidentifikasi antara lain senyawa *1-Hexadecene*, *1-Heptadecene*, *1-Octadecene*, *1-Nonadecene*, *1-Docosene*, dan *3-Eicosene* yang termasuk dalam kelompok senyawa alkena, *1-Tricosanol* dan *1-Nonadecanol* yang tergolong sebagai senyawa alkanol serta *Cyclotetracosane*, *Heneicosane*, *Octacosane*, *Pentatriacontane*, dan *Hexatriacontane* yang tergolong sebagai senyawa alkana.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Pengaruh Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Antibakteri Dalam *Sargassum polycystum*

Senyawa antibakteri terbaik diperoleh dari hasil ekstraksi *Sargassum polycystum* dengan menggunakan pelarut non polar heksan. Penggunaan pelarut yang bersifat non polar menghasilkan senyawa antibakteri yang bersifat non polar pula yakni senyawa alkanol, asam karboksilat dan alkena yang merupakan golongan hidrokarbon. Sebagai pengecualian, senyawa alkanol merupakan turunan alkana yang salah satu gugusnya diganti dengan gugus –OH sehingga tidak lagi bersifat non polar melainkan semi polar. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Firdaus (2006) yang menggunakan pelarut metanol, acetone dan etanol 80% untuk mengekstrak antibakteri dari *Sargassum polycystum* dan *Sargassum echinocarpum*. Penggunaan senyawa yang lebih polar menghasilkan senyawa antibakteri yang bersifat polar pula yakni florotanin.

Perbedaan kandungan ekstrak rumput laut yang berpotensi sebagai antibakteri disebabkan oleh perbedaan polaritas jenis pelarut yang digunakan. Meskipun terdapat perbedaan jenis pelarut mana yang terbaik digunakan sebagai bahan ekstraksi, namun dalam penelitian ini diketahui bahwa ekstrak

algae coklat bersifat antibakteri. Susanto (2003) menyebutkan bahwa kandungan pada algae sebenarnya semua sama, namun karena lingkungan tempat tumbuh yang berbeda menyebabkan konsentrasi atau kadar dari substansi yang dikandung jadi berbeda. Vitor *et al.* (2002) menambahkan bahwa pelarut yang digunakan baik pelarut organik maupun anorganik akan berpengaruh terhadap substansi murni yang akan dibawanya dari suatu bahan.

Heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar. Seperti dinyatakan oleh Vogel (1987), bahwa pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah pelarut yang mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya melarutkan yang tinggi tersebut berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran seyawa yang diekstraksi. Terdapat kecenderungan kuat bagi senyawa polar larut ke dalam pelarut polar, dan bagi senyawa non-polar larut dalam pelarut non polar. Dengan kata lain, metabolit sekunder yang terdapat pada *Sargassum polycystum* yang bersifat sebagai antibakteri kemungkinan besar bersifat non polar.

4.2.2 Senyawa Antibakteri Yang Terkandung Dalam Ekstrak *Sargassum polycystum*

Senyawa-senyawa antibakteri yang ditemukan di dalam algae coklat diantaranya asam amino, terpenoids, florotanin, *acrylic acids*, fenol, steroid, keton halogenasi dan alkana halogenasi, polisulfida siklik serta asam lemak (Bhakuni dan Rawat, 2005). Pada sebagian besar algae laut aktivitas antimikrobiahnya ditandai dengan kehadiran *acrylic acid* (Mtolera dan Semesi, 2008).

Dari hasil penelitian, ekstrak antibakteri *Sargassum polycystum* yang dimaserasi dengan heksan mengandung senyawa-senyawa dari golongan alkana, alkena, alkanol, alkuna dan asam karboksilat. Senyawa antibakteri

Sargassum polycystum hasil GC-MS yang tergolong ke dalam kelompok alkana berjumlah 18 jenis dengan kisaran jumlah atom karbon (C) bervariasi mulai dari 13 atom C pada senyawa *undecane* hingga 44 atom C pada senyawa *tetratetracontane*. Dari 18 senyawa yang memiliki luas area terbesar antara lain *cyclotetracosane*, *heneicosane*, *tetracosane*, *octadecane*, *nonadecane*, *eicosane*, *docosane*, *tetratetracontane*, *heptacosane* dan *nonacosane*. Struktur kimia senyawa-senyawa alkana tersebut disajikan pada Gambar 15.



Gambar 15. Struktur Kimia Senyawa Alkana Ekstrak *Sargassum polycystum*: (a) *Cyclotetracosane*, (b) *Heneicosane*, (Chemicalbook, 2006).

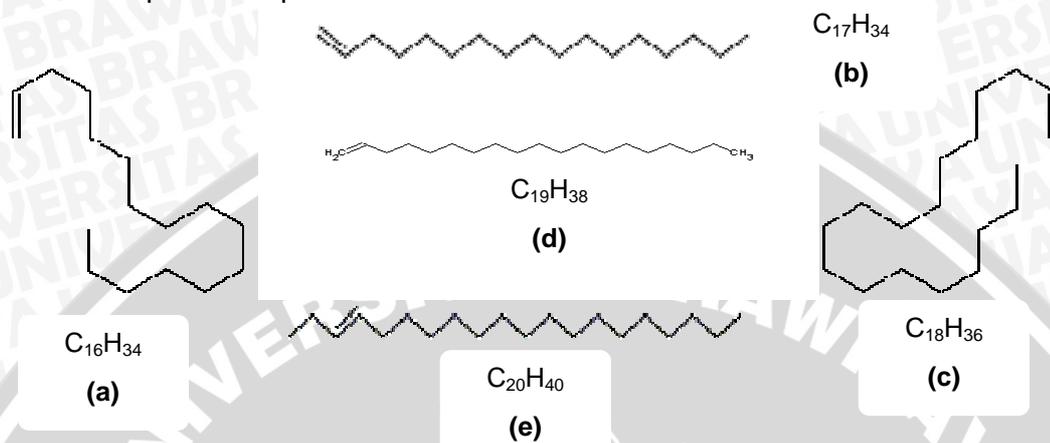
Senyawa antibakteri *Sargassum polycystum* yang tergolong ke dalam kelompok alkanol berjumlah 2 jenis yakni *1-Tricosanol* dan *1-Nonadecanol*. Struktur kimia senyawa-senyawa alkanol disajikan pada Gambar 16.



Gambar 16. Struktur Kimia Senyawa Alkanol Ekstrak *Sargassum polycystum*: (a) *1-Tricosanol* dan (b) *1-Nonadecanol* (google, 2010).

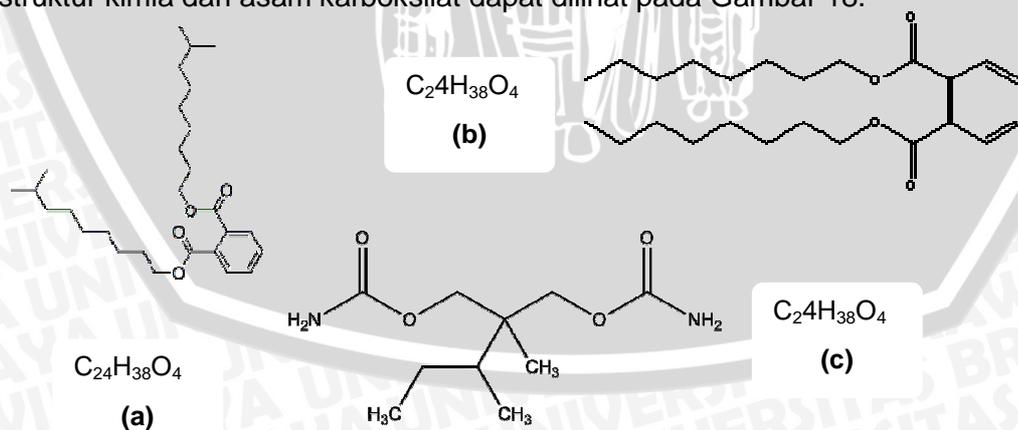
Alkena merupakan kelompok hidrokarbon yang terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum C_nH_{2n} serta memiliki 1 ikatan rangkap (Wikipedia, 2008). Senyawa antibakteri *Sargassum polycystum* yang tergolong ke dalam kelompok alkena berjumlah 9 jenis dengan kisaran jumlah atom karbon (C) bervariasi mulai dari 14 atom C pada senyawa *1-tetradecene* hingga 22 atom

C pada senyawa 1-docosene. Dari 9 senyawa yang memiliki luas area terbesar antara lain 1-Hexadecene, 1-Heptadecene, 1-Octadecene, 1-Nonadecene, 1-Docosene, dan 3-Eicosene. Beberapa struktur kimia senyawa-senyawa alkena tersebut dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Struktur Kimia Senyawa Alkena Ekstrak *Sargassum polycystum*: (a) 1-hexadecene, (b) 1-heptadecene, (c) 1-octadecene, (d) 1-nonadecene, dan (e) 3-eicosene (Chemicalbook, 2006).

Ekstrak *Sargassum polycystum* yang dimaserasi dengan heksan mengandung empat senyawa yang memiliki gugus aktif karboksil yakni 1,2-Benzene dicarboxylic acid atau lebih dikenal sebagai asam ftalat, *Di-n-octyl phthalate*, *Mebutamate*, *7-oxabicyclo* dan *4-n-dodecylcyclohexanone*. Beberapa struktur kimia dari asam karboksilat dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Struktur Kimia Senyawa Asam Karboksilat Ekstrak *Sargassum polycystum*: (a) 1,2-Benzene dicarboxylic, (b) *Di-n-octyl phthalate*, dan (c) *Mebutamate*(Chemicalbook, 2006).

4.2.3 Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri Dan Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

Telah diuraikan di atas bahwa senyawa-senyawa bioaktif dikelompokkan menjadi 4 golongan berdasarkan gugus aktif dan ada tidaknya ikatan rangkap, yakni alkana, alkena, alkanol, dan asam karboksilat. Alkana dalam kimia organik merupakan kelompok senyawa kimia yang hanya terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum C_nH_{2n+2} kecuali pada bentuk siklik, memiliki jumlah atom hidrogen lebih banyak dibandingkan kelompok hidrokarbon lainnya serta tidak memiliki ikatan rangkap (Ars-grin, 2008). Alkana tidak memiliki ikatan rangkap sehingga diduga tidak memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* maupun *Vibrio parahaemolyticus*.

Alkena merupakan kelompok hidrokarbon yang terdiri dari karbon (C) dan hidrogen (H) dengan rumus umum C_nH_{2n} serta memiliki 1 ikatan rangkap (Wikipedia, 2008). Alkanol merupakan senyawa turunan alkana yang salah satu atom H nya diganti oleh gugus fungsi OH sehingga memiliki rumus struktur R-OH dan rumus umum $C_nH_{2n+2}O$ (Chemicaland21, 2009). Asam alkanoat atau asam karboksilat merupakan golongan senyawa karbon yang mempunyai gugus fungsional $-COOH$ terikat langsung pada gugus alkil, sehingga rumus umum asam alkanoat adalah: R-COOH (Riawan, 1990).

Senyawa-senyawa golongan alkena, alkanol dan asam karboksilat diduga memiliki peran sebagai antibakteri. Senyawa alkena memiliki ikatan rangkap dalam struktur molekulnya yang memungkinkan untuk berikatan dengan molekul lain, senyawa alkanol memiliki gugus hidroksil yang dapat menjembatani ikatan hidrofobik dengan hidrofilik, sedangkan senyawa karboksilat memiliki gugus karboksil yang dapat berikatan dengan gugus amina protein. Maryani (2002) menyebutkan pada uji antibakteri akar tanaman akar purwo dengan pelarut fraksi etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia*

coli ATCC 25922, senyawa-senyawa yang mampu berperan sebagai antibakteri yang mengandung ikatan rangkap C=C alkena alifatik dan aromatik, gugus C=O karbonil, gugus C-O-C ester, gugus metilen serta gugus metil. Ditambahkan dalam Andriyani, *et al.* (2006), pada analisis senyawa antibakteri dengan spektrofotometri inframerah terhadap serbuk amorf tanaman temu tis yang dimaserasi dengan pelarut n-heksan, senyawa-senyawa antibakteri yang diamati mengandung gugus alkil, aromatik dan alkena.

Suatu asam karboksilat adalah suatu senyawa organik yang mengandung gugus karboksil, $-\text{COOH}$. Gugus karboksil mengandung gugus karbonil dan sebuah gugus hidroksil; antar aksi dari kedua gugus ini mengakibatkan suatu kereaktifan kimia yang unik dan untuk asam karboksilat (Fessenden, 1997). Senyawa-senyawa yang tergolong dalam asam karboksilat biasa digunakan sebagai bahan pengawet makanan serta pembasmi hama contohnya asam sitrat, asam asetat dan asam format (Catur, 2009). Asam ftalat yang merupakan salah satu senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak *Sargassum polycystum* dan telah diteliti aktivitasnya toksisitasnya terhadap tikus yakni memiliki LD_{50} sebesar 550 mg/kg (Wikipedia, 2007).

1-pentadecene merupakan senyawa golongan alkena yang termasuk salah satu dari 8 komponen utama penyusun senyawa antibakteri yang berhasil teridentifikasi dari ekstrak bunga Legetan. Pada konsentrasi 2,5 10% b/v minyak atsiri bunga Legetan menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri gram positif, sedangkan terhadap bakteri gram negatif aktivitasnya baru muncul pada konsentrasi 15 -30% b/v (Soetjipto, 2008).

Alkohol menurut Pkukmweb (2005) merupakan senyawa kimia yang memiliki gugus fungsi $-\text{OH}$. Alkohol dapat dinyatakan dengan rumus R-OH, dimana R mewakili rantai karbon. Alkohol dapat bereaksi dengan gugus amina menghasilkan produk pengalkilan sebagai berikut.

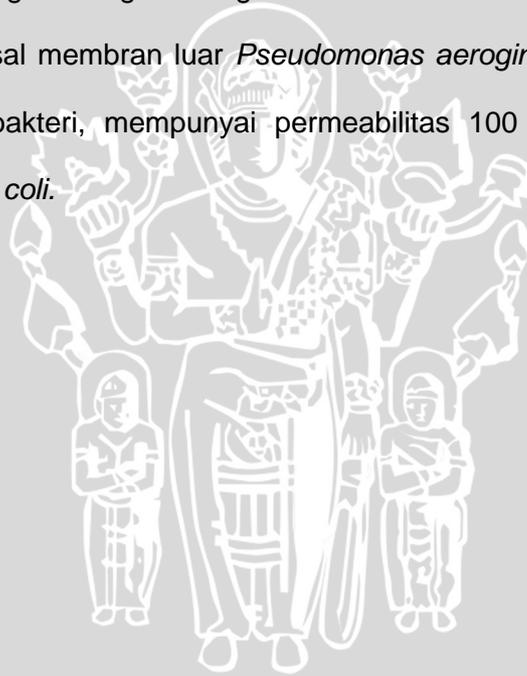


Ekstrak *Sargassum polycystum* yang diekstrak dengan menggunakan pelarut heksan memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Hal ini dapat dilihat dari diameter zona hambatan yang berbeda pada uji cakram. Rata-rata diameter zona hambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 7,39 mm sedangkan pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah 7,46 mm. Dapat dikatakan bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* dengan pelarut heksan lebih efektif untuk menghambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* daripada menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Vibrio parahaemolyticus memiliki permeabilitas membran lebih tinggi dari daripada bakteri lain termasuk *Escherichia coli* sehingga memungkinkan dapat dengan mudah meloloskan difusi pasif dari senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri yang bersifat lipofilik dapat dengan mudah merusak atau mengganggu selektivitas membran sel dan akan mengakibatkan kebocoran atau keluarnya organel dari dalam sel dan menyebabkan kematian sel. Oleh karena itu, bakteri *Escherichia coli* lebih tahan terhadap antibiotik daripada *Vibrio parahaemolyticus* karena memiliki permeabilitas membran yang lebih rendah.

Kemampuan antimikroba dalam memberikan penghambatan terhadap mikroorganisme sangat bergantung pada konsentrasi dan kandungan senyawanya. Pada dasarnya mekanisme menghambatan mikroorganisme oleh antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya: 1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel; 2) peningkatan permeabilitas membran sel; 3) menginaktivasi enzim; dan 4) kerusakan fungsi material genetik (Ardiansyah, 2007).

Menurut Jawetz (2009), Kemampuan membran luar untuk mengeluarkan molekul hidrofobik merupakan ciri yang tidak biasa pada membran biologik dan merupakan perlindungan bagi sel terhadap garam empedu. Karena sifat lipidnya, membran luar diharapkan dapat mengeluarkan molekul hidrofilik dengan baik. Membran luar memiliki saluran khusus, yang terdiri dari molekul protein yang disebut porin, yang dapat meloloskan difusi pasif dari beberapa molekul hidrofilik dengan berat rendah, misalnya gula, asam amino, dan ion tertentu. Molekul antibiotik yang besar menembus membran luar dengan sangat lambat, sehingga bakteri gram negatif relatif sangat tahan terhadap antibiotik. Permeabilitas membran luar bakteri gram negatif sangat bervariasi antara spesies yang satu dengan yang lain; misal membran luar *Pseudomonas aeruginosa*, sangat tebal terhadap bahan antibakteri, mempunyai permeabilitas 100 kali lebih rendah dibanding *Escherichia coli*.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari ketiga pelarut yaitu metanol, heksan dan aceton yang digunakan sebagai ekstrak pada proses maserasi, yang menghasilkan daya antibakteri terbaik adalah ekstrak yang dimaserasi dengan pelarut heksan. Rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 7,39 mm sedangkan rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah 7,46 mm.

Hasil ekstrak *Sargassum polycystum* menggunakan pelarut heksan lebih efektif untuk menghambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* daripada menghambat bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil analisis dengan metode GC-MS, sebanyak 47 jenis senyawa antibakteri berhasil diidentifikasi. Berdasarkan gugus fungsi dan ada tidaknya ikatan rangkap, 47 senyawa tersebut diklasifikasikan dalam kelompok alkana, alkena, alkanol, asam karboksilat dan alkuna. Diduga senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri merupakan senyawa yang berasal dari golongan alkena, alkanol dan asam karboksilat.

5.2 Saran

Disarankan pada penelitian selanjutnya dilakukan pengujian GC-MS terhadap ekstrak pelarut metanol dan aceton, sehingga nantinya dapat dilihat dan dibandingkan hasil perbedaan kandungan masing-masing senyawa antibakterinya.

Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Media TCBSA

Tabel Komposisi Medium TCBSA

Formula	Gram per liter
Yeast Extract Powder	5
Bacteriological Pepton	10
Sodium thosulphate	10
Sodium Citrat	10
Ox Bile	8
Sucrose	20
Sodium Chloride	10
FerrcCitrat	1
Bro-thymol blue	0,04
Thymol-blue	0,04
Agar No.1	14

Sumber: Fardiaz (1993)

Prosedur Pembuatan :

1. Ditimbang 88 gram bubuk/powder medium TCBSA.
2. Dimasukkan erlemeyer 2 L.
3. Ditambahkan aquades sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.
4. Dimasukkan dalam *waterbath* suhu 100°C selama 15 menit.
5. Selama pemanasan di *waterbath* sesekali digoyang erlemeyer untuk membantu pelarutan (supaya homogen).
6. Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlemeyer berarti media telah homogen.
7. Media dituangkan pada cawan steril ± 20 ml, tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas.
8. Jika sudah mengeras media dalam cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas media.
9. Jika melewati uji sterilitas media sudah siap untuk digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, T., E. Suryati., and Muliani. 1995. *Sponge Bioactive Screening For Bactericide in Shrimp Culture*. Indonesia Fisheries Research Journal. Vol. 1 (1): 1-10.
- Anonymous. 2005. *Sargassum polycystum*. <http://www.ipteknetblogger.com>. Diakses tanggal 16 Juni 2010.r
- _____. 2006. *Gas Kromatography Mass Spektrometer*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 3 April 2010.
- _____. 2007. *E. coli*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 16 Juni 2010.
- _____. 2007. *Pelarut*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses tanggal 16 Juni 2010.
- _____. 2008. *Apa Itu Aseton*. <http://www.blogwordpress.com>. Diakses tanggal 16 Juni 2010.
- _____. 2008. *Vibrio Parahaemolyticus Penyebab Gastroenteritis Pada Manusia*. <http://mikrobiologifarmasi.org>. Diakses pada tanggal 10 Mei 2010.
- _____. 2009. *Aceton*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses pada tanggal 7 Juni 2010.
- _____. 2009. *Metanol*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses pada tanggal 7 Juni 2010.
- _____. 2009. *Heksana*. <http://www.wikipedia.org>. Diakses pada tanggal 7 Juni 2010.
- _____. 2009. *Vibrio Parahaemolyticus*. Tokyo Institute of Technology. Jepang.
- Ardiansyah, 2005. *Daun Beluntas Sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*. <http://www.beritaipetek.com>. Diakses pada tanggal 25 Juni 2010.
- Arifin, M. 2003. *Eschericia Coli Disekitar Air Minum Kita*. <http://www.blograden>. Diakses tanggal 6 Mei 2010.
- Arnestown, D. and R.D. Gaththersburg. 2009. *Procedure Operational Standart For Phtalates Analysis*. Laboratory Sciences division of Chemistry. United States.
- Atta-ur-Rahman and M.I. Choudhary.2001. *Bioactive Natural Products as A Potential Source of New Pharmacophores. A Theory Of Memory*. Pure Appl. Chem., Vol. 73, No. 3, p. 555–560.

- Ballantine , D.L., W.H. Gerwick and S.M. Velez.1987. *Antibiotic Activity of Lipid Soluble Extract From Carribean Marine Algae*. Hydrobiologia 151/152: 463 – 469.
- British Pharmacopeia commision. 1993. *British Pharmacopeia*. Vol. II. London: Her Majesty's stationery office: hal. 167-168.
- Brooks, G.F., J.S. Butel, and S.A. Morse. 2005. *Jawetz, Melnick & Adelbergh's: Mikrobiologi Kedokteran, Buku I, Edisi I*. Alih bahasa: Bagian Mikrobiologi, FKU UNAIR Salemba Medika. Jakarta. Hal: 82 - 85, 262 – 265.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards., G.H. Fleet and M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia-Press. Jakarta.
- Day, R.A and Underwood. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Penerbit Erlangga. Jakarta. Diterjemahkan Pudjaatmaka.
- Elfahrybimantara. 2009. *Algae Coklat Sargassum duplicatum*. http://el_fahrybimantara.blogspot.org. Diakses pada tanggal 18 Mei 2010.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fathiyawati. 2008. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Fucus racemosa Terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Faulkner, D.J. 1984. *Marine Natural Products. Metabolites Of Marine Alge And Herbivorous Marin Mollusk*. Nat. prod. Rep 1: 256-260
- Firdaus, M. 2006. Efisiensi Antiradikal Flortanin Sargassum Polycystum dan Sargassum echinocarpum. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Gandjar, I.G dan A, Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Ganiswara, S. G. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Bagian Farmakologi-Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Glombitza K.W. and M. Keusgen. 1995. *Fuhalols And Dehydroxyfuhalols From The Brown Alga Sargassum spinoligerum*. Phytochemistry Vol 38: No 4: 987-995.
- Guether, E. 1987. *Minyak Atsiri I*. Penerbit UI. Jakarta. Diterjemahkan S. Ketaren.
- Harborne J.B. (1987). *Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua*. Penerbit ITB, Bandung.
- Hay, M.E. and W. Fenical. 1988. *Marine Plant Herbivore Interactions: The Ecology Of Chemical Defense*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 19: 111-145.

- Izzati, M. 2007. *Skreening Potensi Antibakteri Pada Beberapa Spesies Rumput Laut Terhadap Bakteri Patogen Pada Udang Windu*. BIOMA, Desember 2007 ISSN: 1410-8801 Vol. 9, No. 2, Hal. 62 - 67
- Jawetz, E., J.L. Melnick, and E. Adelberg. 1995. *Medical Microbiology*. Apleton and Lange. New York.
- Junanto, T. 2009. *Rumput Laut Sebagai Obat dan Makanan Yang Baik Bagi Kesehatan*. Program Studi Biosains. UNS Surakarta
- Juneidi. 2008. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tiga Rumput Laut (Sargassum polycystum, Caulerpa racemosa dan Gracilaria verrucosa) Terhadap Bakteri Aeromonas hydrophila dan Vibrio alginolyticus*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Keusgen M., M Falk., J.A. Walyrt, and K.W. Glombitza. 1997. *A Phloroglucinol Derivative From Brown Alga, Sargassum spinuligerum*. Journal of Chemical Ecology Vol 22: No 10: 34-39.
- Kirby, W.M and Bauer, A.W. 1966. *Antibiotic Susceptibility By A Standardized Single Disk Method*. Amer. J. Clin. Pathol No 45: hal 493-496.
- Komara, A. 1991. *Ekstraksi Oleoresin Jahe Kajian Dari Ukuran Bahan, Pelarut, Waktu dan Suhu*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kusmiyati dan N.W.S. Agustini. 2006. *Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Dari Mikroalga Porphyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong.
- Lay, B.H. 1994. *Anailisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Limukala. 2009. *Sargassum cristaefolium*. <http://www.zipcodezoo.com>. Diakses pada tanggal 10 Mei 2010.
- Matanjun, P., S. Mohamed, N.M. Mustapha, K. Muhammad., and C.H. Ming. 2008. *Antioxidant Activities and Phenolic Content of Eight Species of Seweeds From North Borneo*. J Appl Phycol 20:367-373.
- Mulyo, A. U. 2010. *Efek Ekstrak Alga Coklat (Sargassum hystrix J. Agardh) Terhadap Arah dan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Hiperglikemia*. Diakses pada tanggal 10 Oktober 2010
- Munifah, I., H.I. Januar dan T. Wikanta. 2005. *Screening of Antioksidan and Antikanker Extracts From Macro Algae*. Research Center of Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology. Jakarta.
- Nazir, M. 1989. *Metode Penelitian*. PT. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Nufailah, D., P.J. Wibawa dan Wijanarko. 2002. *Uji Aktivitas Antibakteri Produk Asam Palmitat Dalam Sistem NaBH₄/ BF₃.Et₂O Terhadap Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Universitas Diponegoro. Semarang.

- Pradhika, E. I. 2008. *Daya Kerja Antimikroba dan Oligodinamik*. yanpusmeongblog.com. Diakses pada tanggal 7 Juni 2010.
- Prasetyo, L.J. 2009. *Pertumbuhan Mikroba*. <http://www.try4know.co.cc>. Diakses pada tanggal 6 Mei 2010
- Putra, I. N. K. 2007. *Studi Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya*. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.
- Rahmat, R. 1999. *Pemanfaatan Produk Alam Algae Laut Untuk Obat dan Kosmetik*. Puspipetek Serpong.
- _____. *Potensi Algae Coklat di Indonesia dan Prospek Pemanfaatannya*. Puspipetek Serpong.
- Reumanjisen. 2008. *Metode Uji Narkoba*. <http://www.reumanjisen007'sblog>. Diakses pada tanggal 7 Juni 2010.
- Roth, H. J. and Blaschke, G.1985. *Analisis Farmasi*. Alih Bahasa: Dr. Sarjono Kisman. Gadjah Mada University Press.
- Rukyani, A. 1999. *Beberapa Jenis Penyakit Sebagai Kendala Utama Budidaya Udang dan Cara Pengendaliannya*. Badan Litbang Pertanian.
- Sastrohamidjojo, H., 1985. *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta.
- Satari, R dan A, Kadi,. 1994. *Aktivitas Antibakteri Sponge Asal Pulau Pari*. Laboratorium Produk Alam Laut Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor.
- Setiadi. 2005. *Uji Kinerja Katalis ZSM-5 Dalam Konversi Aseton Menjadi Hidrokarbon Aromatik*. Prosiding Simposium dan Kongres Masyarakat Katalisis Indonesia, Gedung Widya Bhakti , Serpong.
- Silverstein. R.M, 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds, 5th Edition*. John Wiley & Sons Inc. London.
- Sudarmadji. S.B, Haryono dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Susanto, W.H. 1999. *Teknologi Lemak dan Minyak Makan*. Jurusan THP Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suryasubrata, S. 1989. *Metode Penelitian*. Rajawali. Jakarta.
- Syamsir, E. 2008. *Kasus Vibrio parahaemolyticus di Dalam Seafood*. <http://www.ilmupangan.blogspot.com>. Diakses tanggal 9 Oktober 2009.

- Vogel, A.I 1987. *Textbook of Practical Organic Chemistry*. Revised by Furnies B.S. 4nd Edition. New York.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Diterjemahkan Soendani. Dan Setiono.
- Wiyanto, D. B. 2008. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Kappaphycus alvarezii dan Eucheuma denticullatum Terhadap Bakteri Aeromonas hydrophila dan Vibrio harveyii*. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.
- Yowani dan I.G.A. Hayati. 2006. *Pengaruh Pelarut Aseton dan Tetrahidrofuran (THF) Pada Sintesis N-(4-Nitrobenzoil)Tiourea*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Yuharmen, Y.E. Eryanti dan Nurbalatif. 2002. *Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (Alpina galanga)*. Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau
- Yunizal. 2004. *Teknologi Pengolahan Alginat*. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sisoal Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta. hal.2-3



Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Media Tryptone Soya Agar (TSA)

Tabel Komposisi Medium Tryptone Soya Agar (TSA)

Formula	Gram per liter
Tryptone	15
Soya Peptone	5
Sodium Chloride	5
Agar	15

Sumber: Fardiaz (1993)

Prosedur Pembuatan :

1. Ditimbang 40 gram bubuk/powder medium TSA.
2. Dimasukkan erlemeyer 2 L .
3. Ditambahkan aquades sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.
4. Dimasukkan dalam *waterbath* suhu 100°C selama 15 menit.
5. Selama pemanasan di *waterbath* sesekali erlemeyer digoyang untuk membantu pelarutan (supaya homogen).
6. Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlemeyer berarti media telah homogen.
7. Media didinginkan sampai suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ (hangat-hangat kuku).
8. Tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas.
9. Jika sudah mengeras media dalam cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium.
10. Jika melewati uji sterilitas media sudah siap untuk digunakan.

Lampiran 3. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Uji Cakram Bakteri *Escherichia coli*

1. Data Diameter Zona Hambat Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

1.1 Hasil Uji Cakram terhadap *E. coli* Secara Duplo

Tabel .Hasil Uji Cakram Secara Duplo

Perlakuan	Ulangan zona hambat (mm)					
	1		2		3	
	A	B	A	B	A	B
Kontrol metanol	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Kontrol acetone	6,00	6,01	6,00	6,01	6,00	6,01
Kontrol heksan	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Sargassum pengekstrak metanol	6,10	6,11	6,09	6,05	6,04	6,04
Sargassum pengekstrak acetone	6,24	6,21	6,26	6,25	6,24	6,24
Sargassum pengekstrak heksan	7,43	7,44	7,40	7,41	7,34	7,34

1.2 Data Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Tabel. Rata-Rata Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	6,00	6,00	6,00	18,00	6,00
B	6,01	6,01	6,01	18,03	6,01
C	6,00	6,00	6,00	18,00	6,00
D	6,11	6,07	6,04	18,22	6,07
E	6,23	6,26	6,24	18,73	6,24
F	7,44	7,41	7,34	22,19	7,39
Total				113,17	

Keterangan:

- A : Kontrol metanol
- B : Kontrol acetone
- C : Kontrol heksan
- D : Sargassum pengekstrak metanol
- E : Sargassum pengekstrak acetone
- F : Sargassum pengekstrak heksan

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis:

$$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 = 0$$

$H_1 =$ paling tidak ada sepasang T_i nilai tengah) yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0,05(n-1)} \longrightarrow$ terima H_0 ; tidak ada perbedaan sepasang T_i
(tidakberbedanyata)

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$ terima H_1 dan tolak H_0 ; perbedaan
sepasang T_i nyata

$f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$ terima H_1 ; perbedaan sepasang T_i sangat nyata

2.2 Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

2.2.1 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma^2}{rn} = \frac{(113,17)^2}{3 \times 6} = \frac{12.807,4489}{18} = 711,5249389$$

2.2.2 Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (6,00^2 + 6,00^2 + 6,00^2 + \dots + 7,34^2) - FK \\ &= 716,0943 - 711,5249389 \\ &= 4,5693611 \end{aligned}$$

2.2.3 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(18,00^2 + 18,03^2 + 18,00^2 + 18,22^2 + 18,73^2 + 22,19^2)}{3} - FK \\ &= 716,0861 - 711,5249389 \\ &= 4,5611611 \end{aligned}$$

2.2.4 Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 4,5693611 - 4,5611611 \\ &= 0,0082 \end{aligned}$$

2.3 Analysis of variance (ANOVA)

Tabel. Analisis Ragam Daya Hambat Antibakteri Terhadap *E. coli*

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	KT ((JK/db)	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	5	4,5611611	0,91223222	1334,97**	3,11	5,06
Galat	12	0,0082	0,0006833			
Total	17	4,5693611				

Kesimpulan : $f_{hitung} > f_{0,01(n-1)}$ terima H_1 ; perbedaansepasang T_i sangat nyata

2.4 Interpretasi

Ekstrak antibakteri *Sargassum* memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri uji *Escherichia coli* dibandingkan dengan kontrol pelarut pengekstraknya masing-masing. Penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap efektifitas proses ekstraksi antibakteri dari rumput laut *Sargassum polycystum*. Perbedaan efektifitas ekstraksi antibakteri yang dipengaruhi oleh perbedaan polaritas pelarut mempengaruhi lebar diameter penghambatan (zona hambat) pertumbuhan bakteri uji *Escherichia coli*.

3. Menentukan Jenis Pelarut yang Paling Potensial (Uji BNJ 5%)

3.1 Perhitungan BNJ5%

$$BNJ_a = Q_{a(p; db galat)} \times \sqrt{\frac{2KT Galat}{ulangan}}$$

$$BNJ_{0,05} = Q_{0,05(6;12)} \times \sqrt{\frac{0,0006833}{3}}$$

$$= 4,75 \times 0,01509$$

$$= 0,0717$$

3.2 Notasi BNJ 5%

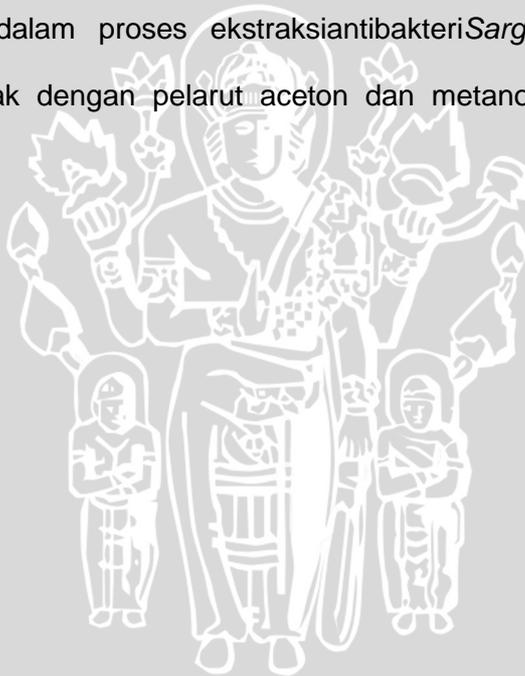
Tabel. Kolom Notasi BNJ 5%

Rata-rata diameter	A (6,00)	C (6,00)	B (6,01)	D (6,07)	E (6,24)	F (7,39)
A (6,00)	-	-	-	-	-	-
C (6,00)	-	-	-	-	-	-
B (6,01)	0,01	0,01	-	-	-	-
D (6,07)	0,07*	0,07*	0,06	-	-	-
E (6,24)	0,24*	0,24*	0,23*	0,17*	-	-
F (7,39)	2,39*	0,39*	1,38*	1,32*	1,15*	-
Notasi BNT _{0,05} = 0,07	a	a	a	b	c	d

Ket: * = selisihsepasangnilaitengah > BNJ_{0,05}

4. Kesimpulan

Berdasarkan perbedaan polaritasnya, heksanamerupakan pelarut yang paling baik digunakan dalam proses ekstraksi antibakteri *Sargassumpolycystum*. Sampel yang diekstrak dengan pelarut aceton dan metanol kurang memiliki aktifitas antibakteri.



Lampiran 4. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Uji Cakram *V. parahaemolyticus*

1. Data Diameter Zona Hambat Antibakteri terhadap *V. parahaemolyticus*

1.1 Hasil Uji Cakram *V. parahaemolyticus* Secara Duplo

Tabel . Hasil Uji Cakram Secara Duplo

Perlakuan	Ulangan zonahambat (mm)					
	1		2		3	
	A	B	A	B	A	B
Kontrol metanol	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01
Kontrol aceton	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01
Kontrol heksan	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01
Sargassum pengekstrak metanol	6,05	6,21	6,06	6,06	6,14	6,13
Sargassum pengekstrak aceton	6,27	6,28	6,26	6,26	6,29	6,29
Sargassum pengekstrak heksan	7,38	7,42	7,47	7,46	7,54	7,54

1.2 Data Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Tabel. Rata-Rata Diameter Zona Hambat

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	6,01	6,01	6,01	18,03	6,01
B	6,01	6,01	6,01	18,03	6,01
C	6,01	6,01	6,01	18,03	6,01
D	6,13	6,06	6,13	18,32	6,10
E	6,27	6,26	6,29	18,82	6,27
F	7,40	7,46	7,54	22,40	7,46
Total				113,63	

Keterangan:

- A : Kontrol metanol
- B : Kontrol aceton
- C : Kontrol heksan
- D : Sargassum pengekstrak metanol
- E : Sargassum pengekstrak aceton
- F : Sargassum pengekstrak heksan

2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Hipotesis:

$$H_0 = T_1 = T_2 = T_3 = 0$$

$H_1 =$ paling tidak ada sepasang T_i nilai tengah) yang tidak sama

$f_{hitung} < f_{0,05(n-1)} \longrightarrow$ terima H_0 ; tidak ada perbedaan sepasang T_i
(tidakberbedanyata)

$f_{0,05(n-1)} < f_{hitung} < f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$ terima H_1 dan tolak H_0 ; perbedaan
sepasang T_i nyata

$f_{hitung} > f_{0,01(n-1)} \longrightarrow$ terima H_1 ; perbedaan sepasang T_i sangat nyata

2.2 Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

2.2.1 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma^2}{rn} = \frac{(113,63)^2}{3 \times 6} = \frac{12.911,7769}{18} = 717,3209389$$

2.2.2 Jumlah Kuadrat Total (JK Total)

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (6,01^2 + 6,01^2 + 6,01^2 + \dots + 7,54^2) - FK \\ &= 722,2861 - 717,3209389 \\ &= 4,9651611 \end{aligned}$$

2.2.3 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK Perlakuan)

$$\begin{aligned} JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(18,03^2 + 18,03^2 + 18,03^2 + 18,32^2 + 18,82^2 + 22,40^2)}{3} - FK \\ &= 722,2725 - 717,3209389 \\ &= 4,9515611 \end{aligned}$$

2.2.4 Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\ &= 4,9651611 - 4,9515611 \\ &= 0,0136 \end{aligned}$$

2.3 Analysis of variance (ANOVA)

Tabel. Analisa Ragam Daya Hambat Antibakteri Terhadap *V. parahaemolyticus*

Sumber Keragaman (SK)	Derajat bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	KT ((JK/db)	Fhit	F 5 %	F 1%
Perlakuan	5	4,9515611	0,99031222	873,80**	3,11	5,06
Galat	12	0,0136	0,00113333			
Total	17	4,9651611				

Kesimpulan : $f_{hitung} > f_{0,01(n-1)}$ terima H_1 ; perbedaansepasang T_i sangat nyata

2.4 Interpretasi

Ekstrak antibakteri *Sargassum* memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri uji *Vibrio parahaemolyticus* dibandingkan dengan kontrol pelarut pengekstraknya masing-masing. Penggunaan pelarut yang berbeda berpengaruh terhadap efektifitas proses ekstraksi antibakteri dari rumput laut *Sargassum polycystum*. Perbedaan efektifitas ekstraksi antibakteri yang dipengaruhi oleh perbedaan polaritas pelarut mempengaruhi lebar diameter penghambatan (zona hambat) pertumbuhan bakteri uji *Vibrio parahaemolyticus*.

3. Menentukan Jenis Pelarut yang Paling Potensial (Uji BNJ5 %)

3.1 Perhitungan BNJ5%

$$\begin{aligned} \text{BNJ}_a &= Q_{\alpha(p; \text{db galat})} \times \sqrt{\frac{2\text{KT Galat}}{\text{ulangan}}} \\ \text{BNJ}_{0,05} &= Q_{0,05(6;12)} \times \sqrt{\frac{0,00113333}{3}} \\ &= 4,75 \times 0,01943 \\ &= 0,0922 \end{aligned}$$

3.1.2 Notasi BNJ 5%

Tabel. Kolom Notasi BNJ 5%

Rata-rata diameter	A (6,01)	B (6,01)	C (6,01)	D (6,10)	E (6,27)	F (7,46)
A (6,01)	-	-	-	-	-	-
B (6,01)	-	-	-	-	-	-
C (6,01)	-	-	-	-	-	-
D (6,10)	0,09	0,09	0,09	-	-	-
E(6,27)	0,26*	0,26*	0,26*	0,17*	-	-
F (7,46)	1,45*	1,45*	1,45*	1,36*	1,19*	-
Notasi	a	a	a	a	b	c
BNT _{0,05} = 0,09						

Ket: * = selisihsepasangnilaitengah > BNJ_{0,05}

4. Kesimpulan

Berdasarkan diameter zonahambat yang dihasilkan, pelarut yang paling baik digunakan untuk ekstraksi antibakteri. *Sargassumpolycystum* adalah heksana yang bersifat non polar, kemudian acetone yang bersifat semi polar, dan yang paling buruk adalah metanol yang bersifat polar. Semakin meningkat kepolaran, semakin banyak komponen bioaktif yang bersifat antibakteri yang berhasil diekstrak. Heksana merupakan pelarut yang paling baik digunakan dalam proses ekstraksi sampel yang diekstrak dengan pelarut acetone dan metanol kurang memiliki aktifitas antibakteri.

Lampiran 5. Penggolongan Senyawa Alkana, Alkena, Alkanol, dan Asam Karboksilat

47 Senyawa Bioaktif Hasil Ekstrak *Sargassum polycystum* Dengan Pelarut Heksan GC-MS

No	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak	Area (%)
1	1-Tetradecene	C ₁₄ H ₂₈	196	1	0,54
2	1-Pentadecene	C ₁₅ H ₃₀	210	1,2	1,33
3	1-Dodecene	C ₁₂ H ₂₄	168	1	0,27
4	1-Hexadecene	C ₁₆ H ₃₂	224	2	2,12
5	1-Heptadecene	C ₁₇ H ₃₄	238	2,3	2,37
6	1-Octadecene	C ₁₈ H ₃₆	252	2,3,4,11,19	6,6
7	1-Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	266	3,7,11,19	4,49
8	1-Docosene	C ₂₂ H ₄₄	308	3,4,7,11	4,78
9	3-Eicosene	C ₂₀ H ₄₀	280	4,7	5,25
10	1-Tricosanol	C ₂₃ H ₄₈ O	340	4	1,44
11	Nonane	C ₁₃ H ₂₈	184	5	0,30
12	Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	198	5,6	0,4
13	Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	226	6,8,21	0,96
14	Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	268	6,12,15,17,20	6,26
15	Dodecane	C ₁₅ H ₃₂	212	6,10,18,31	0,46
16	1-Nonadecanol	C ₁₉ H ₄₀ O	284	7	1,18
17	Undecane	C ₁₃ H ₂₈	184	8,13	0,43
18	Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	240	8,12,13,15,22	2,92
19	Heptacosane	C ₂₇ H ₅₆	380	9,17,25,28,29,32	5,6
20	Tricosane	C ₂₃ H ₄₈	324	9,26	1,16
21	Octadecane	C ₁₈ H ₃₈	254	9,10,12,20,26	3,88
22	Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282	9,20	3,12
23	Tridecane	C ₁₄ H ₃₀	198	10,21,23	0,6
24	Pentadecane	C ₁₉ H ₄₀	268	10,23	0,22
25	Octane	C ₁₁ H ₂₄	156	10	0,12
26	Cyclotetracosane	C ₂₄ H ₄₈	336	11,19	1,42
27	Heneicosane	C ₂₁ H ₄₄	296	12,15,28	3,9
28	Dodecylcyclohexane	C ₁₈ H ₃₆	252	14	0,07
29	Cyclohexane	C ₁₂ H ₂₄	168	14,27	1,1
30	Tridecylcyclohexane	C ₁₉ H ₃₈	266	14	0,07
31	Octacosane	C ₂₈ H ₅₈	394	15	1,19
32	1,2-Benzenedicarboxylic	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	16	0,74
33	Di-n-octyl phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	16	0,18
34	Docosane	C ₂₂ H ₄₆	310	17,21,32	1,78
35	Heptane	C ₁₄ H ₃₀	230	18	0,11
36	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	18	0,22
37	Mebutamate	C ₁₀ H ₂₀ N ₂ O ₄	232	18	0,11
38	Cyclodocosane	C ₂₄ H ₄₈	336	19	0,57



39	Decane	$C_{12}H_{26}$	170	22,23	0,64
40	Tetratetracontane	$C_{44}H_{90}$	618	22,25,28,29,30,32,33	14,96
41	Cyclopentane	$C_{26}H_{52}$	364	24	0,52

1. Alkana

No	JenisSenyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak	Area (%)
1	Nonane	$C_{13}H_{28}$	184	5	0,30
2	Tetradecane	$C_{14}H_{30}$	198	5,6	0,4
3	Hexadecane	$C_{16}H_{34}$	226	6,8,21	0,96
4	Nonadecane	$C_{19}H_{40}$	268	6,12,15,17,20	6,26
5	Dodecane	$C_{15}H_{32}$	212	6,10,18,31	0,46
6	Undecane	$C_{13}H_{28}$	184	8,13	0,43
7	Heptadecane	$C_{17}H_{36}$	240	8,12,13,15,22	2,92
8	Heptacosane	$C_{27}H_{56}$	380	9,17,25,28,29,32	5,6
9	Tricosane	$C_{23}H_{48}$	324	9,26	1,16
10	Octadecane	$C_{18}H_{38}$	254	9,10,12,20,26	3,88
11	Eicosane	$C_{20}H_{42}$	282	9,20	3,12
12	Tridecane	$C_{14}H_{30}$	198	10,21,23	0,6
13	Pentadecane	$C_{19}H_{40}$	268	10,23	0,22
14	Octane	$C_{11}H_{24}$	156	10	0,12
15	Cyclotetracosane	$C_{24}H_{48}$	336	11,19	1,42
16	Heneicosane	$C_{21}H_{44}$	296	12,15,28	3,9
17	Dodecylcyclohexane	$C_{18}H_{36}$	252	14	0,07
18	Cyclohexane	$C_{12}H_{24}$	168	14,27	1,1
19	Tridecylcyclohexane	$C_{19}H_{38}$	266	14	0,07
20	Octacosane	$C_{28}H_{58}$	394	15	1,19
21	Docosane	$C_{22}H_{46}$	310	17,21,32	1,78
22	Heptane	$C_{14}H_{30}$	230	18	0,11
23	Cyclodocasane	$C_{24}H_{48}$	336	19	0,57
24	Decane	$C_{12}H_{26}$	170	22,23	0,64
25	Tetratetracontane	$C_{44}H_{90}$	618	22,25,28,29,30,32,33	14,96
26	Cyclopentane	$C_{26}H_{52}$	364	24	0,52
27	Pentatriacontane	$C_{35}H_{72}$	492	25,26,29,30,32	6,14
28	Pentacosane	$C_{25}H_{52}$	352	26	0,29
29	Hexatriacontane	$C_{36}H_{74}$	507	28,33	2,6
30	Tritetracontane	$C_{43}H_{88}$	604	33	0,43
Total					63,82

2. Alkena

No	JenisSenyawa	RumusMolekul	Berat Molekul	Peak	Area %
1	1-Tetradecene	C ₁₄ H ₂₈	196	1	0,54
2	1-Pentadecene	C ₁₅ H ₃₀	210	1,2	1,33
3	1-Dodecene	C ₁₂ H ₂₄	168	1	0,27
4	1-Hexadecene	C ₁₆ H ₃₂	224	2	2,12
5	1-Heptadecene	C ₁₇ H ₃₄	238	2,3	2,37
6	1-Octadecene	C ₁₈ H ₃₆	252	2,3,4,11,19	6,6
7	1-Nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	266	3,7,11,19	4,49
8	1-Docosene	C ₂₂ H ₄₄	308	3,4,7,11	4,78
9	3-Eicosene	C ₂₀ H ₄₀	280	4,7	5,25
10	7-oxabicyclo	C ₇ H ₁₂	112	27	2,12
Total					21,29

3. Alkanol

No	JenisSenyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak	Area (%)
1	1-Tricosanol	C ₂₃ H ₄₈ O	340	4	1,44
2	1-Nonadecanol	C ₁₉ H ₄₀ O	284	7	1,18
3	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	18	0,22
Total					6,38

4. AsamKarboksilat

No	JenisSenyawa	Rumus Molekul	Berat Molekul	Peak	Area (%)
1	1,2-Benzenedicarboxylic	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	16	0,74
2	Di-n-octyl phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	16	0,18
3	Mebutamate	C ₁₀ H ₂₀ N ₂ O ₄	232	18	0,11
4	4-n-dodecylcyclohexanone	C ₁₈ H ₃₄	266	27	0,47
Total					8,51

Lampiran6.DokumentasiPenelitian

1. *Sargassumpolycystum*segar



2. Pencuciangandanlarutangaram 5%



3. *Sargassumpolycystum*diangin-anginkan



4. *Sargassumpolycystum*dipotong kecil-kecil



5. *Sargassumpolycystum* direndam dengan heksan, acetone dan metanol teknis 96%



6. Sampel dimaserasi dalam inkubator oven (ruang gelap) suhu 40°C



7. Penyaringan ekstrak sargassum polycystum



8. Pemisahan pelarut dengan *vacuum rotary evaporator*



9. Ekstrak metanol (kanan), heksan (tengah) dan (kiri) aceton



10. Uji GC-MS ekstrak yang dimaserasi dengan heksan teknis 96%

