Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

SKRIPSI

POTENSI ANTIBAKTERI LAMUN *Enhalus acoroides* DARI PANTAI PACIRAN KABUPATEN LAMONGAN TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Salmonella typhi*

Oleh:

BETZI HADI PRATIWI

NIM. 115080500111001

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 2 Juli 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji I	**Dosen Pembimbing I**
(Feni Iranawati, S. Pi., M.Si., Ph.D)	**(Dr. Ir. Guntur, MS)**
NIP. 19740812 200312 2 001	**NIP. 19580605 198601 1 001**
Tanggal :	**Tanggal :**
Dosen Penguji II	**Dosen Pembimbing II**
(Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel.,M.Sc)	**(Ade Yamindago, S.Kel.,M.Sc)**
NIK. 2013048609152001	**NIP. 19840521 200801 1 002**
Tanggal :	**Tanggal :**

Mengetahui,

(Dr. Ir. Daduk Setyohadi, MP)
NIP. 19630608 198703 1 003

Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, 5 Mei 2015
Mahasiswa

BETZI HADI PRATIWI
NIM.115080600111001

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UCAPAN TERIMAKASIH

Dengan selesainya laporan Skripsi ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT berkat rahmat dan hidayah-Nya penelitian ini dapat terselesaikan
2. Orang tua dan keluarga yang selalu sabar, memberi dukungan, materi, motivasi dan doa restu selama penyusunan skripsi
3. Dr. Ir. Guntur, MS, selaku Dosen Pembimbing I Skripsi yang memberi motivasi, masukan dan bimbingan selama proses penyusunan laporan
4. Ade Yamindago, S.Kel., M.Sc, selaku Dosen Pembimbing II Skripsi yang selalu sabar memberi masukan, solusi, pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan laporan
5. Feni Iranawati, S. Pi., M.Si., Ph.D selaku Dosen Penguji I yang memberi masukan dan pembenahan dalam penyusunan laporan
6. Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel., M.Sc selaku Dosen Penguji II yang memberi masukan dan pembenahan dalam penyusunan laporan
7. Teman-teman seperjuangan tim biotek (Siek, Doni, Yafis, Buyung, Ucil) dan para Mariners UB yang memberi hiburan dan dukungan
8. Teman-teman Green Zone 2011 yang memberikan saya banyak pengalaman dalam berorganisasi dan kekeluargaan
9. Umar Anshori yang menjadi motivasi agar cepat terselesainya laporan skripsi ini

Malang, 5 Mei 2015

Penulis

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

RINGKASAN

BETZI HADI PRATIWI. Potensi Antibakteri Lamun *Enhalus acoroides* Dari Pantai Paciran Kabupaten Lamongan Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Salmonella typhi* (dibimbing oleh **Guntur** dan **Ade Yamindago**).

Lamun adalah tumbuhan angiospermae yang terendam di laut dan melimpah di daerah pasang surut di semua perairan kecuali di daerah kutub. Lamun dapat beradaptasi di lingkungan yang bersalinitas dengan cara memproduksi senyawa metabolit sekunder berupa senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif ini dikenal dapat menghambat pertumbuhan bakteri terutama bakteri patogen. Respon setiap spesies bakteri terhadap senyawa bioaktif berbeda – beda.

Tujuan dari Penelitian ini yaitu untuk mengetahui apakah lamun *Enhalus acoroides* berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Senyawa apakah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Apakah lamun *Enhalus acoroides* bersifat bakteriostatik atau bakterisida terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus.*

Pengambilan sampel daun dilakukan di Pantai Paciran, Kabupaten Lamongan, Jawa Timur. Metode ekstraksi daun lamun yaitu maserasi selama 2x24 jam menggunakan pelarut methanol p.a dengan perbandingan 1:8. Kromatografi kolom terbuka menggunakan silica gel GF 60 sebagai fase diam dan pelarut etil asetat dan metanol sebagai fase gerak. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram dan analisa senyawa aktif menggunakan spektrofotemer UV – Visible. Data diameter zona hambat yang diperoleh di analisa secara deskriptif.

Hasil yang didapatkan dari kolom kromatografi terbuka yaitu ada tiga fraksi. Fraksi 1 merupakan fraksi paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *S typhi* dengan zona bening pada konsentrasi 500 ppm yaitu 2.03 mm dan 1.86 mm. Senyawa bioaktif yang diduga mampu menghambat perumbuhan bakteri tersebut adalah flavanon. Bakteri yang paling rentan terhadap ekstrak daun lamun adalah *Staphylococcus aureus*. Lamun *Enhalus acoroides* pada pantai Paciran masih bersifat bakteriostatik.

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Ucapan puji syukur atas kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya laporan skripsi yang berjudul "Potensi Antibakteri Lamun *Enhalus acoroides* Dari Pantai Paciran Kabupaten Lamongan Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Salmonella typhi*" dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu.

Laporan ini membahas tentang potensi daun lamun dari spesies *Enhalus acoroides* dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen Gram negatif *Salmonela typhi* dan bakteri pathogen Gram positif *Staphylococcus aureus*.

Sebagaimana telah disadari bahwa masih ada kekurangan dalam penulisan laporan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengaharapkan kritik dan saran yang membangun dan dapat menyempurnakan isi dari laporan ini yang nantinya bermanfaat bagi pembaca. Semoga tulisan ini bisa memberikan manfaat dan informasi baru bagi para pembaca.

Malang, 5 Mei 2015

Penulis

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS ii
UCAPAN TERIMAKASIH iii
RINGKASAN iv
KATA PENGANTAR v
DAFTAR ISI vi
DAFTAR GAMBAR viii
DAFTAR TABEL ix
1. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Perumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Manfaat Penelitian 4
2. TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Lamun 5
2.2 Lamun *Enhalus acoroides* 5
2.3 Potensi Senyawa Bioaktif Lamun *Enhalus acoroides* 7
2.4 Bakteri Uji 8
2.4.1 Bakteri *Staphylococcus aureus* 8
2.4.2 Bakteri *Salmonella typhi* 9
2.5 Analisis Senyawa Bioaktif Pada Lamun 11
2.5.1 Ekstraksi 11
2.5.2 Skrining Fitokimia 12
2.5.3 Kromatografi Kolom Terbuka 12
2.5.4 Uji Aktifitas Antibakteri 13
2.6 Spektrofotometri Ultra Violet - Visible 14
3. METODE PENELITIAN 15
3.1 Waktu dan Tempat 15
3.2 Alat dan Bahan 16
3.3 Metode Penelitian 18
3.4 Prosedur Penelitian 19
3.4.1 Pengambilan Sampel dan Parameter Lingkungan 20

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

3.4.2 Ekstraksi 20
3.4.3 Uji Fitokimia 21
3.4.4 Kolom Kromatografi Terbuka 22
3.4.5 Sterilisasi Alat Dan Bahan 22
3.4.6 Pewarnaan Gram 23
3.4.7 Uji Antibakteri 23
3.4.8 UV-Vis 26
3.5 Analisis Data 26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN 27
4.1 Ekstraksi dan Rendemen 27
4.2 Hubungan Parameter Perairan Dengan Metabolit Sekunder pada Lamun 28
4.3 Uji Fitokimia 29
4.4 Kromatografi Kolom Terbuka 34
4.5 Pewarnaan Gram 36
4.6 Aktifitas Antibakteri 36
4.7 Hasil Identifikasi Senyawa dengan UV - Vis 39
4.8 Aktifitas Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif 43
4.9 Sifat Antibakteri Bakteristatik dan Bakterisida 45
5. KESIMPULAN DAN SARAN 47
5.1 Kesimpulan 47
5.2 Saran 47
DAFTAR PUSTAKA 48
LAMPIRAN 54

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. *Enhalus acoroides* (Nurfadillah, 2013) 6
Gambar 2. *Staphylococcus aureus* (Nurfadillah, 2013) 9
Gambar 3. *Salmonella thyposa* (Darmawati, 2008) 10
Gambar 4. Peta Loaksi Pantai Paciran 15
Gambar 5. Diagram Penelitian 19
Gambar 6. Hasil Uji Alkaloid 30
Gambar 7. Hasil Uji Flavanoid 31
Gambar 8. Hasil Uji Saponin 32
Gambar 9. Hasil Uji Tannin 32
Gambar 10. Hasil Uji Triterpenoid 33
Gambar 11. Hasil Kromatografi Kolom Terbuka (a) Hijau pekat (b) Hijau muda (c) Kuning bening 35
Gambar 12. Bakteri Pewarnaan Gram (a) *S. typhi* (gram negative) (b) *S. aureus* (gram positif) 36
Gambar 13. Uji Antibakteri (a) *S. aureus* (b) *S. typhi* 38
Gambar 14. Uji Antibakteri (a) *S. aureus* (b) *S. typhi* 39
Gambar 15. Hasil Uji UV - Visible 40
Gambar 16. Grafik Uji Aktivitas Antibakteri 41
Gambar 17. Grafik Aktivitas Antibakteri 44
Gambar 18. Ekstrak Kasar 48 Jam (a) *S. aureus* (b) *S. typhi* 46
Gambar 19. Fraksi 1 48 Jam (a) *S. aureus* (b) *S. typhi* 46
Gambar 20. Fraksi 2 48 Jam (a) *S. aureus* (b) *S. typhi* 46

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat Penelitian 16
Tabel 2. Bahan Penelitian 17
Tabel 3. Perbandingan rendemen hasil ekstraksi dengan pelarut metanol 27
Tabel 4. Parameter Kualitas Air 28
Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia *Enhalus acoroides* 29
Tabel 6. Perbandingan Profil Metabolit Sekunder Pada *E.acoroides* 34
Tabel 7. Uji Aktivitas Antibakteri 37
Tabel 8. Hasil Uji UV - Visible 40

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kajian bahan alami dari laut atau yang sering kita ketahui sebagai *marine natural product* telah berkembang di Indonesia sejak satu dekade ini. Kajian mengenai senyawa bioaktif sangat penting dilakukan karena dapat berpotensi sebagai pengganti sumber bahan baku obat sintetik selain dari darat. Diketahui bahwa antibiotik yang berasal dari darat dapat menimbulkan efek samping dan sudah banyak yang resisten, sehingga diperlukan pencarian sumber bahan baku dari laut. Organisme laut yang sering diteliti sebagai pengganti bahan baku obat baru yaitu sponge, alga, rumput laut dan lamun, namun lamun masih tergolong baru dalam pengembangannya.

Lamun merupakan tumbuhan angiospermae yang terendam di laut dan melimpah di daerah pasang surut di semua perairan kecuali di daerah kutub. Di Indonesia terdapat 13 jenis lamun dari 7 genus di Indonesia diantaranya yaitu *Enhalus acoroides*, *Syringodium isoetifolium, Cymodocea rotundata* dan *Thallasia hemprichii* (Kuo, 2007 ; Kannan *et al.,* 2010).

Lamun sudah banyak digunakan oleh masyarakat baik secara tradisional maupun modern. Secara tradisional, lamun dimanfaatkan sebagai pengisi kasur, sebagai atap rumbia, pupuk kompos, dan sebagainya, sedangkan pemanfaatan secara modern, lamun dimanfaatkan sebagai penyaring limbah, bahan untuk kertas, serta sebagai bahan baku obat-obatan (Azkab, 2006). Beberapa penelitian sebelumnya telah menemukan senyawa bioaktif dalam *Enhalus acoroides* berpotensi sebagai antibakteri (Nurfadilah, 2013), *antifouling* (Dewi, 2013), dan antikanker (Arifuddin, 2013).

Senyawa bioaktif memiliki manfaat bagi manusia khususnya dibidang kesehatan, salah satunya yaitu senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antibakteri dimanfaatkan sebagai obat dalam penyembuhan penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan pengujian terhadap potensi antibakteri yaitu, Nurfadilah (2013) menemukan senyawa bioaktif flavanoid dan triterpenoid yang terkandung dalam *Enhalus acoroides* yang berpotensi sebagai antibakteri.

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri telah mambahayakan manusia, diantaranya yaitu disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi.* Diketahui jenis bakteri *Staphylococcus* dan *Salmonella typhi* telah resisten terhadap antibiotika. Menurut Satari (2008) bakteri *Staphylococcus* resisten terhadap antibiotik metisilin, oxacilin, dicloxacilin, Nafcilin dan Sephalosporin dan *Salmonella typhi* resisten terhadap antibiotik ampisilin, penicilin, dan kotrimoksazol (Suswati dan Ayu, 2008).

Bakteri dibagi menjadi dua bagian besar berdasarkan struktur selnya yaitu, Gram positif dan Gram negatif. Penyakit infeksi sebagian besar disebabkan oleh bakteri pathogen, salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif penyebab bisul, nanah, bahkan keracunan darah (Kusuma, 2009) sedangkan *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri gram negatif menyebabkan demam tifoid, yaitu penyakit yang menginfeksi usus halus dengan gejala demam satu minggu atau lebih disertai gangguan pada saluran pencernaan (Suswati dan Ayu, 2008). Selain itu, Kedua spesies bakteri pathogen tersebut berdampak langsung ke manusia. Hal tersebut yang menjadikan alasan dalam pemilihan spesies bakteri tersebut.

Secara umum, penggunaan obat antibiotik dalam jangka waktu yang lama dalam mencegah infeksi bakteri dapat meningkatkan resistensi dari

bakteri tersebut dan menghasilkan residu yang berbahaya terhadap tubuh manusia. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemanfaatan senyawa bioaktif alami baru sebagai antibakteri. Maka dari itu penelitian mengenai aktivitas ekstrak lamun terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* perlu dilakukan.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka permasalahan yang ada dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah lamun *Enhalus acoroides* berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* ?
2. Senyawa apa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*?
3. Apakah lamun *Enhalus acoroides* bersifat bakteriostatik atau bakterisida terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan yang ada dapat yaitu sebagai berikut:

1. Mengetahui potensi antibakteri lamun *Enhalus acoroides* terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*
2. Mengetahui senyawa pada lamun *Enhalus acoroides* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*
3. Mengetahui apakah lamun *Enhalus acoroides* bersifat bakteriostatik atau bakterisida terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan nantinya akan bermanfaat bagi beberapa pihak, antara lain:

1. Bagi masyarakat akademis dapat digunakan sebagai informasi dan pengetahuan tentang efektifitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi lamun *Enhalus acoroides* yang berasal dari Lamongan
2. Bagi masyarakat umum dapat digunakan sebagai bahan alternatif yang ramah lingkungan dan tidak bersifat meningkatkan resistensi bakteri dalam pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri pathogen yaitu *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lamun

Lamun (*seagrass*) adalah tumbuhan berbunga (*Angiospermae*) satu – satunya yang mampu hidup secara permanen di bawah permukaan air laut dan mampu beradaptasi secara penuh di perairan yang memiliki salinitas cukup tinggi (Fitriana, 2007).

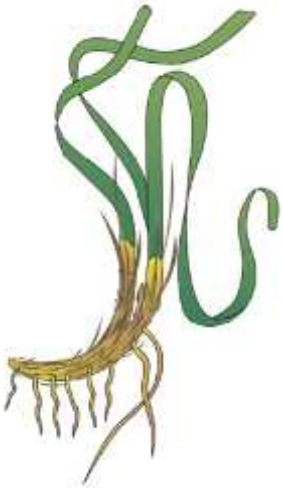
Pola hidup lamun umumnya berupa hamparan yang sering disebut padang lamun (*Seagrass bed*) yaitu hamparan vegetasi lamun yang menutup suatu area pesisir/laut dangkal, terbentuk dari satu jenis atau lebih dengan kerapatan padat atau jarang. Padang lamun umumnya berada di dasar laut yang masih dapat dijangkau oleh cahaya matahari yang memadai bagi pertumbuhannya. Lamun hidup di perairan yang jernih dengan sirkulasi air yang baik, sirkulasi air diperlukan untuk menghantarkan zat-zat hara dan oksigen (Hartog, 1970).

Jumlah jenis lamun kurang lebih 50 jenis, terdiri dari 12 marga yaitu 9 marga yang termasuk suku *Potamogetonaceae* dan 3 marga termasuk dalam suku *Hydrocharitaceae.* Kedua suku tersebut diklasifikasikan dalam ordo monokotil (Azkab, 2006). Dari 50 jenis lamun tersebut, ada 13 jenis yang telah ditemukan di Indonesia diantaranya yaitu *Enhalus acoroides* (Kuo, 2007).

2.2 Lamun *Enhalus acoroides*

Enhalus acoroides merupakan salah satu jenis lamun tropis dengan morfologi yang besar. Hanya ada satu spesies dari Enhalus, panjang daun sekitar 30 - 200 cm dan lebar 1,2 - 2 cm. Lamun tersebut dapat diidentifikasi

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



pasir - kasar dan lumpur sampai pecahan karang serta lumpur sampai lumpur - berpasir (Supriyadi, 2010).

2.3 Potensi Senyawa Bioaktif Lamun *Enhalus acoroides*

Pada penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa pada lamun telah ditemukan beberapa senyawa aktif yang bersifat antimikroba, diantaranya ialah tannin, saponin, terpene, alkaloida dan glikosida (El-Haddy *et al.*, 2007). Morfologi dan anatomi dari beberapa jenis lamun berbeda-beda, sehingga sangat mempengaruhi kandungan senyawa bioaktif yang terkandung pada lamun tersebut. Lamun memiliki rhizoma, daun dan akar sejati sehingga memiliki jenis kandungan senyawa yang berbeda-beda pula pada setiap bagiannya (Nurfadilah, 2013). Rumiantin (2011) menemukan adanya kandungan senyawa flavonoid dan fenol hidrokuinon pada daun *Enhalus acoroides*, sedangkan Elizabeth (2012) menemukan senyawa steroid pada akar *enhalus acoroides*.

Enhalus acoroides merupakan jenis lamun yang memiliki daun rimpang tebal, panjang dan lebar sehingga cenderung memiliki kandungan senyawa aktif yang bersifat sebagai antibakteri karena adanya ancaman dari epifit, karena daun lamun merupakan substrat dengan nutrien, pertukaran air, dan akses cahaya yang dibutuhkan oleh organisme epifitik (Tomascik *et al.*, 1997). Lamun dengan tipe daun yang besar lebih disukai daripada lamun dengan tipe daun yang kecil, karena lamun dengan morfologi daun yang lebih besar akan mempunyai kondisi substrat yang lebih stabil (Wenno, 2004).

Enhalus acoroides juga dilaporkan mengandung senyawa bioaktif golongan fenolik yang cenderung potensial sebagai antioksidan (Kannan

et al. 2010). Jenis lamun ini juga mempunyai kandungan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, fenol, tannin, steroid dan saponin yang terdapat pada semua bagian lamun (Ali *et al*., 2012).

2.4 Bakteri Uji

Multidrugs Resistance (MDR) adalah suatu keadaan dimana bakteri resisten terhadap minimal tiga jenis antibiotik. MDR ini dapat disebabkan karena beberapa hal antara lain adalah pemakaian antibiotik yang tidak memenuhi kaidah yang telah ditentukan yaitu tepat dosis, tepat diagnostik dan tepat bakteri penyebab (Satari, 2008).. Diketahui jenis bakteri *Staphylococcus* dan *Salmonella* telah menjadi kebal terhadap antibiotika seperti metisilin, oxacilin, dicloxacilin, nafcilin, sephalosporin, ampisilin, penicilin, dan kotrimoksazol

2.4.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus salah satu bakteri Gram positif yang berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 µm, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 ºC, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 ºC). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Kusuma, 2009).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Fardiaz (1993) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Eubacteria

Divisio : Firmicutes

UNIVERSITAS BRAWIJAYA REPOSITORY.UB.AC.ID

sakit kepala, nafsu makan berkurang, sakit perut dan gangguan buang air besar (Darmawati, 2008).

2.5 Analisis Senyawa Bioaktif Pada Lamun

2.5.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen zat aktif dari suatu bahan dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif (Harborne 1987). Sifat penting yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah kepolaran senyawa yang dilihat dari gugus polarnya (seperti gugus OH, COOH, dan lain sebagainya). Hal ini yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, kelarutan, kemampuan tidak saling bercampur, kerapatan, reaktivitas dan titik didih (Rahayu 2009).

Harborne (1987) mengelompokkan metode ekstraksi menjadi dua, yaitu ekstraksi sederhana dan ekstraksi khusus. Ekstraksi sederhana terdiri atas:

a) Maserasi, yaitu metode ekstraksi dengan cara meredam sampel dalam pelarut dengan atau tanpa pengadukan
b) Perkolasi, yaitu metode ekstraksi secara berkesinambungan yaitu dengan mengaliri pelarut secara terus menerus;
c) Reperkolasi, yaitu perkolasi dimana hasil perklorasi digunakan untuk melarutkan sampel di dalam perkulator sampai senyawa kimianya terlarut;
d) Diakolasi, yaitu perkolasi dengan penambahan tekanan udara.

Ekstraksi khusus terdiri atas:

a) Sokletasi, yaitu metode ekstraksi secara berkesinambungan untuk melarutkan sampel kering dengan menggunakan pelarut bervariasi;

b) Arus balik, yaitu metode ekstraksi secara berkesinambungan dimana sampel dan pelarut saling bertemu melalui gerakan aliran yang berlawanan;

2.5.2 Skrining Fitokimia

Fitokimia memiliki peran penting dalam penelitian obat yang dihasilkan dari tumbuhan. Fitokimia adalah bagian ilmu pengetahuan alam yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian tentang isolasi dan senyawa kimia dalam tanaman, perbandingan struktur senyawa kimia tanaman dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman atau penelitian untuk pengembangan senyawa kimia dalam tanaman (Sirait, 2007).

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sabagian besar merupakan reaksi penguji warna dengan suatu pereaksi warna. Perhatian khusus dari fitokimia adalah keanekaragaman struktur senyawa metabolit sekunder yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan dan bagaimana cara mengisolasi, mengidentifikasi serta mengetahui aktivitas biologis seperti toksisitasnya (Kristanti *et al.,* 2008). Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak kasar bila diuji dengan sistem biologi (Harborne, 1987).

2.5.3 Kromatografi Kolom Terbuka

Kromatografi kolom adalah suatu metode pemisahan yang didasarkan pada pemisahan daya adsorbsi suatu adsorben terhadap suatu senyawa. Dimana proses ini sangat tergantung pada eluen (pelarut) yang digunakan jika eluen yang digunakan sudah baik sehingga akan terjadi pemisahan senyawa pada kandungan ekstrak yang sempurna (Nurfadilah, 2013).

Pada prinsipnya kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi. Sampel yang biasanya berupa larutan pekat diletakkan pada ujung atas kolom. Eluen dialirkan secara kontinu ke dalam kolom. Dengan adanya gravitasi atau karena bantuan tekanan, maka eluen atau pelarut akan melewati kolom dan proses pemisahan akan terjadi. Zat yang bergerak cepat akan turun dan akan muncul sebagai eluat (Kristanti *et al.*, 2008).

2.5.4 Uji Aktifitas Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa atau zat yang dapat menghambat / membunuh pertumbuhan bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasakan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesisi protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005).

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

2.6 Spektrofotometri Ultra Violet - Visible

Spektrofotometri UV - Visible merupakan teknik analisis spektroskopik yang memakai memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik) ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV - Visible melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV - Visible lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Peralatan yang digunakan dalam spektrofotometri disebut spektrofotometer (Mukti, 2013).

Spektrofotometer UV - Visible adalah alat yang umum digunakan di laboratorium kimia. Alat ini biasanya digunakan untuk analisa kimia kuantitatif, namun dapat juga digunakan untuk analisa kimia semi kualitatif. Prinsip kerja spektrofotometer UV - Vis didasarkan pada fenomena penyerapan sinar oleh spesi kimia tertentu di daerah ultra lembayung (ultra violet) dan sinar tampak (visible) (Huda, 2001).

Repository Universitas Brawijaya

PETA LOKASI PENELITIAN

3.2 Alat dan Bahan

Terdapat alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini, alat – alat yang digunaka sebagaimana yang terdapat pada Tabel 1. Sedangkan bahan – bahan yang digunakan terdapat pada Tabel 2.

Tabel 1. Alat Penelitian

No.	Alat	Spesifikasi	Fungsi
Ekstraksi			
1.	Gunting	Gundo	Memotong sampel
2.	Blender	Miyako	Menghaluskan sampel
3.	Timbangan digital	Analitik (0,1 mg)	Menimbang sampel
4.	Corong	Herma (75 mm)	Memasukkan pelarut
5.	Erlemeyer	Pyrex (500 ml)	Wadah maserasi
6.	Gelas ukur	Pyrex (10 ml)	Mengukur volume larutan
7.	*Rotary evaporator*	IKA RV 10	Alat untuk ekstraksi
8.	Spatula	-	Menghomogenkan larutan
9.	Botol vial	Amoxan (20 ml)	Menyimpan hasil ekstrak
10.	Kulkas	Sharp (-15°C - 10°C)	Menyimpan sampel
Skrining Fitokimia			
1.	Pipet tetes	-	Mengambil larutan
2.	Botol vial	Amoxan (7 ml)	Tempat pereaksi
3.	Gelas ukur	Herma (10 ml)	Mengukur volume larutan
4.	Tabung reaksi	Schott fiolax	Tempat pereaksi
5.	Rak tabung reaksi	-	Tempat tabung reaksi
6.	Spatula	-	Menghomogenkan larutan
7.	Hot plate	Cimarec (0 – 500°C)	Sumber panas
8.	Gelas stainless	-	Tempat merebus larutan
9.	Timbangan analitik	Analitik (0,01 mg)	Menimbang sampel lamun
Kromatografi Kolom Terbuka (KKT)			
1.	Buret dan statif	-	Alat kolom kromatografi
2.	Gelas ukur	Pyrex (25 ml)	Tempat larutan eluen
3.	Botol vial	Amoxan (20 ml)	Penampung eluat
Uji Antibakteri			
1.	Autoclave	-	Tempat untuk sterilisasi
2.	Timbangan digital analitik	Analitik (0,01 mg)	Menimbang bahan dan ekstrak
3.	Vortex mixer	-	Menghomogenkan larutan
4.	Cawan petri	Pyrex	Tempat media tumbuh bakteri
5.	Tabung reaksi	Schott fiolax	Tempat larutan suspensi dan kultur bakteri
6.	Gelas ukur 100 ml	Herma (100 ml)	Mengukur larutan
7.	Erlemeyer 250 ml	Pyrex (250 ml)	Tempat media

Uji Antibakteri			
8.	Mikropipet	-	Mengambil larutan konsentrasi dalam skala kecil
9.	Jarum ose	-	Menginakolasi bakteri
10.	Pinset	-	Mengambil paper disc dari larutan
11.	Sendok bahan	-	Mengambil bahan
12.	Cotton swab	-	Menyetrik bakteri
13.	Jangka sorong	-	Mengukur zona hambat
14.	Bunsen	-	Pengkondisian sterilisasi
15.	Washing Bottle	-	Menyimpan aquades
16.	Rak tabung reaksi	-	Tempat tabung reaksi
17	Incubator	-	Menyimpan bakteri dan media

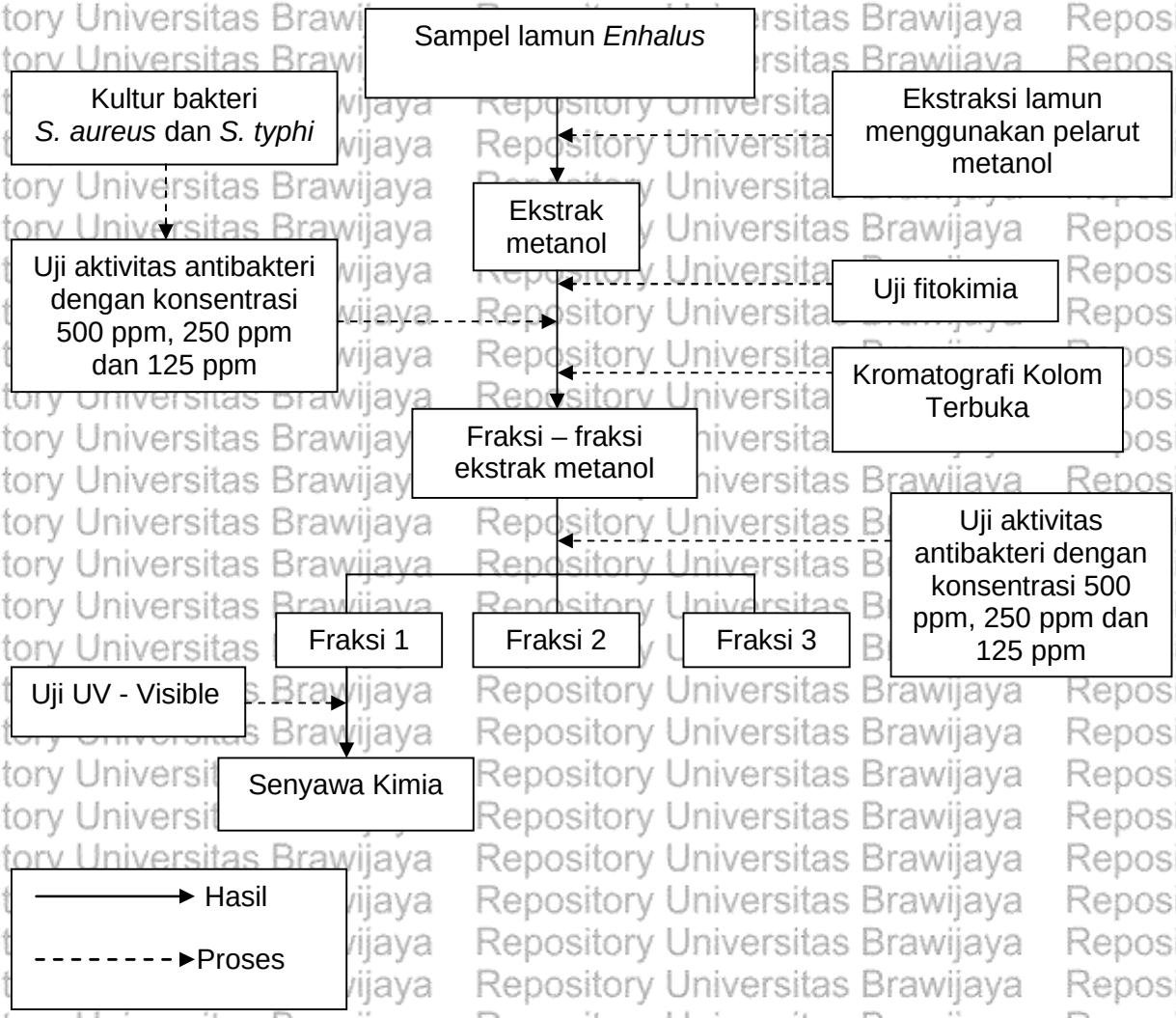
Tabel 2. Bahan Penelitian

No.	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
Ekstraksi			
1.	Lamun *Enhalus acoroides*	50 gram	Sampel yang akan di uji
2.	Metanol *PA*	400 ml	Pelarut polar untuk maserasi
3.	Kertas saring (Whatman)	Pori – pori : 12,5 mm	Menyaring sampel lamun pada proses maserasi
4.	Aluminium foil	Kinpak	Menutup larutan
5.	Kertas label	Kojico	Penanda
Skrining fitokimia			
1.	Asam sulfat 2N	10,9 ml (10 tetes)	Uji alkaloid
2.	Pereaksi Mayer	0,54 ml (6 tetes)	Uji alkaloid
3.	$FeCl_3$	-	Uji flavanoid
4.	HCL Pekat	-	Uji flavanoid
5.	HCL 2 N	0,09 ml (1 tetes)	Uji saponin
6.	$FeCl_3$ 1%	-	Uji tannin
7.	Kloroform	0,18 ml (2 tetes)	Uji triterpenoid
8.	Asam sulfat	0,27 ml (3 tetes)	Uji triterpenoid
9.	Aquades	2 ml (44 tetes)	Uji saponin
Kromatografi Kolom Terbuka			
1.	Ekstrak lamun	3 gr	Sampel yang akan di purifikasi
2.	Silica gel	GF 60	Fase diam
3.	Metanol *Pa*	1000 ml	Eluen fase gerak
4.	Etil asetat	1000 ml	Eluen fase gerak
5.	Kertas saring whatman no. 1	-	Menyaring larutan eluen
6.	Kapas	-	Menyaring larutan eluen

Uji Antibakteri			
1.	Fraksi ekstrak dan ekstrak kasar	-	Sampel yang di uji
2.	NA	Merck	Media pertumbuhan bakteri
3.	NaFis 0.9%	-	Larutan suspense
4.	Mc Farland 0,5	-	Larutan pembanding suspensi bakteri
5.	Kapas	-	Menutup bahan ketika di sterilisasi
6.	Kertas Koran	-	Membungkus alat ketika di sterilisasi
7.	Tali	-	Mengikat alat
8.	Aluminium foil	-	Menutup larutan
9.	Kertas cakram	-	Uji daya hambat
10.	Alkohol 70%	-	Pengkondisian sterilisasi
11.	Kertas tabel	-	Sebagai penanda bahan

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental yang dilakukan secara *in vitro.* Metode eksperimental merupakan metode yang dilakukan untuk mencari hubungan sebab akibat antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh peneliti dengan mengeliminasi atau menyisihkan faktor – faktor lain yang bisa mengganggu (Singarimbun dan Sofian, 1989).



Gambar 5. Diagram Penelitian

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

3.4.1 Pengambilan Sampel dan Parameter Lingkungan

Pengambilan sampel lamun *E. coroides* dilakukan secara random sampling pada lokasi yang sama yaitu di Pantai Paciran, Kabupaten Lamongan. Sampel daun lamun segar diambil langsung dari habitatnya, kemudian dibersihkan dari organisme penempel (*epifit*), setelah bersih dari *epifit* daun lamun dikeringkan secara alami sampai berat daun lamun menjadi kering sesuai dengan penelitian Dewi (2013).

Pengambilan data parameter lingkungan terdiri dari salinitas dengan menggunakan salinometer *Pocket Refractometer Atago*, DO menggunakan *digital thermometer Dekko*, suhu perairan menggunakan thermometer Hg, dan pH perairan menggunakan pHmeter *Waterproof Oakion* yang dilakukan secara *in-situ* pada perairan yang merendam lamun tersebut.

3.4.2 Ekstraksi

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi yaitu perendaman daun lamun dengan pelarut metanol sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Anwariyah (2011). Lamun kering dihaluskan dengan blender sampai halus dan menjadi serbuk. Serbuk lamun kemudian ditimbang sebanyak 50 gram lalu direndam (maserasi) di dalam larutan metanol PA (*Pro Analys*) 400 ml (1:8) selama 2 x 24 jam untuk mendapatkan filtrat. Setelah dimaserasi selama 2 x 24 jam, sampel disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 1 agar diperoleh filtrat dan residu.

Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kasar berupa pasta, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Ekstrak kasar lamun kemudian ditimbang agar dapat diketahui prosentase rendemen yang diperoleh. Hasil rendemen (yield) dihitung dengan menggunakan rumus:

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

3.4.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak lamun *E. acoroides* menggunakan metode Harborne (1987) sebagai berikut:

1. Uji Alkaloid

   0,05 gr sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilakukan penambahan H_2SO_4 dan dikocok hingga benar-benar tercampur. Kemudian disaring dan dilakukan penambahan pereaksi Meyer dengan melihat endapan putih maka sampel dikatakan positif..

2. Uji Flavonoid

   0,05 gr sampel ditambahkan $FeCl_3$ dan HCL pekat. Hasil uji positif bila larutan berwarna merah, kuning atau jingga.

3. Uji Saponin

   0.05 gr sampel diletakkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan air panas dan tabung reaksi dikocok. Setelah itu dibiarkan selama 30 menit dan ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes. Hasil positif uji saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil.

4. Uji Tanin

   0,05 gr sampel disedung dengan air panas yang telah dididihkan selama 3 menit. Sampel tersebut disaring setelah itu ditetesi dengan $FeCl_3$ 1%. Hasil uji positif jika larutan berwarna biru tua atau hijau kehitaman.

5. Uji Trierpenoid

0,5 gram sampel ditambahkan 2 ml kloroform. 3 ml asam sulfat ditambahkan secara perlahan sampai terbentuk lapisan berwarna. Warna merah kecoklatan menunjukkan positif terpenoid.

3.4.4 Kolom Kromatografi Terbuka

Kromatografi kolom terbuka ini dilakukan berdasarkan penelitian Hardoko dan Claudia (2013), yaitu sebagai berikut :

1. Memasukkan bulatan kapas dan kertas saring kedalam dasar buret
2. Merendam *silica gel* dalam pelarut etil asetat sejumlah 1:2 lalu diaduk sampai terbentuk pemisahan (supernatan dibuang). Kemudian tambahkan etil asetat (1:1) lalu aduk hingga terbentuk bubur yang siap diisikan kedalam kolom, lalu didiamkan selama 15 menit
3. Memasukkan ekstrak sebanyak 3 ml ke dalam kolom lalu dielusi dengan fase gerak secara perlahan, fase gerak menggunakan metanol dan etil asetat sebanyak 100 ml dengan perbandingan (100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90, 0:100)
4. Menampung eluat ke dalam botol vial lalu di uapkan hingga kering dan mendapatkan ekstrak

3.4.5 Sterilisasi Alat Dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan harus disterilkan terlebih dahulu agar tidak terjadi kontaminasi pada beberapa tahap yang melibatkan bakteri. Sterilisasi dengan uap air panas dan tekanan tinggi menggunakan *autoclave* yang mempunyai suhu 121ºC dan tekanan 1 atm (Setiawan, 2014).

3.4.6 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram pada penelitian ini yaitu untuk memastikan bahwa bakteri yang di uji berbeda spesies dengan melihat warna dari dinding selnya. Hal pertama yang dilakukan yaitu :

- Ambil bakteri dari koloni murni menggunakan jarum loop
- Goreskan koloni bakteri pada objek glass
- Fiksasi kaca tersebut diatas bunsen
- Tetesi Kristal ungu dan diamkan selama 1 menit
- Bilas dengan aquades, lalu tetesi dengan iodium dan diamkan selama 2 menit
- Bilas dengan aquades, kemudian cuci dengan alcohol 70%
- Bilas dengan aquades, kemudian tetesi dengan safranin dan diamkan selama 30 detik, bilas dengan aquades kembali
- Amati preparat dibawah mikroskop

3.4.7 Uji Antibakteri

1. Pembuatan Medium Agar NA

Pembuatan media pertumbuhan bakteri dilakukan terlebih dahulu sebelum tahap peremajaan bakteri, pada penelitian ini menggunakan media NA. Hal pertama yang dilakukan yaitu :

- Menimbang bubuk NA 9.6 gram dengan menggunakan timbangan digital
- Memasukkan bubuk NA 9.6 gram ke dalam *erlenmeyer* dan menambahkan 480 ml *aquadest* kemudian diaduk sambil direbus agar partikel homogen
- Mensterilisasi media NA yang sudah homogen menggunakan *autoclave* lalu biarkan hingga hangat

- Menuangkan media NA ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml
- Menunggu media NA hingga menjadi agar lalu dibungkus dengan plastik dan disimpan dalam lemari es sampai digunakan

2. Peremajaan Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Peremajaan bakteri bertujuan untuk memperbanyak jumlah stok bakteri agar cukup untuk diuji daya hambatkan terhadap ekstrak lamun. Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* yang di beli dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya kemudian di perbanyak dengan metode agar miring menggunakan media NA. Hal pertama yang dilakukan yaitu :

- Menimbang NA 0.4 gram menggunakan timbangan digital
- Memasukkan media NA 0.4 gram ke dalam *erlenmeyer* dan menambahkan 20 ml *aquadest* kemudian diaduk dan direbus agar partikel homogen
- Mensterilisasi media NA yang sudah homogen menggunakan *autoclave* kemudian menuangkannya ke dalam tabung reaksi steril masing-masing sebanyak 10 ml lalu memiringkan sebesar 30º dan menunggu hingga menjadi agar
- Setelah media menjadi agar, menggoreskan isolat bakteri *Salmonella typhi* pada permukaan media agar miring menggunakan jarum ose, begitu pula untuk *Staphylococcus aureus*
- Tutup mulut tabung reaksi dengan kapas, bungkus dengan *plastic wrap* dan *aluminium foil* dan ikat dengan tali lalu masukkan ke dalam inkubator, tunggu hingga 24 jam lalu pindahkan ke dalam kulkas dengan suhu 10°C

3. Pembuatan Larutan Suspensi Bakteri

Larutan suspensi berfungsi untuk menyesuaikan konsentrasi bakteri yang akan ditanam untuk diuji daya hambatkan terhadap ekstrak lamun sesuai dengan larutan standard *Mc Farland* 0.5. Menurut Victor (1980), Komposisi larutan *Mc Farland* yaitu H_2SO_4 0,36 N sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan $BaCl_2.2H_2O$ 1,175% sebanyak 0,5 ml dalam *erlenmeyer*, kemudian dihomogenkan sampai terbentuk kekeruhan tertentu. Larutan ini umum digunakan sebagai standard kekeruhan suspensi bakteri uji.

4. Pembuatan Larutan Ekstrak

Konsentrasi larutan ekstrak fraksi lamun *Enhalus acoroides* yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri sangat mempengaruhi besarnya daya hambat. Dalam penelitian ini digunakan konsentrasi larutan ekstrak sebesar 500 ppm, 250 ppm dan 125 ppm. Ekstrak daun *Enhalus acoroides* diencerkan dengan *dimethylsulfoxide* (DMSO) 10 %. Untuk mendapatkan konsentrasi DMSO 10% maka dibutuhkan DMSO sebesar 10 ml dan ditambah akuades sebesar 90 ml. Pelarut DMSO 10% merupakan pelarut organik dan tidak bersifat sebagai antibakteri (Reynolds, 1996). DMSO dapat digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu.

5. Uji Daya Hambat

Penelitian ini menggunakan metode difusi agar. Pada metode difusi agar ini menggunakan konsentrasi 500 ppm, 250 ppm dan 125 ppm. Hal pertama yang dilakukan yaitu :

- Menyiapkan bakteri dari larutan suspensi yang sudah disetarakan kepekatannya dengan larutan *Mc Farland* 0.5

- Ambil bakteri menggunakan *cotton swab* dan goreskan ke cawan petri yang telah teriisi media NA steril secara diagonal
- Letakkan kertas cakram yang telah direndam dengan larutan ekstrak selama 15 menit pada permukaan agar yang telah tertanam bakteri
- Kloramfenikol di gunakan sebagai kontrol positif dan *aquadest* sebagai kontrol negatif
- Menginkubasi sampel pada suhu 37°C selama 24 jam
- Mengamati aktivitas antibakteri berdasarkan diameter daerah hambat yang ditunjukkan dengan daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram dan diukur menggunakan jangka sorong, nilai zona bening didapatkan dari selisih zona bening diameter kertas cakram
- Pengamatan dan pengukuran zona hambat dilakukan pada waktu 24 jam dan 48 jam

3.4.8 UV-Vis

- Memasukkan larutan sampel ke dalam cuvet
- Mengukur serapan (absorbansi) pada panjang gelombang antara 200-800 nm dan menggunakan etil asetat sebagai blanko
- Menghitung kadar sampel dengan memasukkan harga serapan pada persamaan garis kurva standar baku

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa parameter lingkungan, senyawa yang terkandung di dalam ekstrak, dan diameter zona bening dianalisis secara deskriptif.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi dan Rendemen

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metanol PA (polar). Ekstraksi yang dilakukan terhadap organisme laut, baik tumbuhan ataupun hewan, dipengaruhi oleh faktor kepolaran dari pelarut yang digunakan. Semakin polar sifat pelarut yang digunakan, maka hasil rendemen ekstraksi akan semakin banyak.

Pada penelitian ini proses ekstraksi dilakukan berdasarkan penelitian Anwariyah (2011), berat lamun kering yang digunakan yaitu 50 gram dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol PA dengan perbandingan 1:8 dan direndam selama 2 x 24 jam. Hasil ekstrak kasar yang didapatkan yaitu 3,12 gram, sehingga rendemen yang dihasilkan 6,24%. Penelitian Anwariyah (2011) dan Pratiwi (2014) menunjukkan lamanya waktu perendaman mempengaruhi hasil rendemen, hal tersebut, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan rendemen hasil ekstraksi dengan pelarut metanol

Spesies	Perbandingan (Ekstrak : Pelarut)	Waktu Maserasi	Rendemen	Peneliti
T. hemprichi	1:8 (25 g : 200 ml)	48 Jam	17.11 %	Putri, 2011
C. rotundata	1:8 (20 g : 160 ml)	48 Jam	9.76 %	Anwariyah, 2011
T. hemprichi	1:8 (37 g : 296 ml)	24 Jam	5.66 %	Pratiwi, 2014
E. acoroides	1:8 (50 g : 400 ml)	48 Jam	6.24 %	Pratiwi, 2015

Hubungan jumlah pelarut, waktu maserasi dan rendemen diperkuat dengan penelitian Hudha (2013) yang menggunakan variabel jumlah pelarut dan waktu maserasi terhadap hasil rendemen, menyatakan bahwa semakin banyak jumlah pelarut dan semakin lama waktu yang digunakan dalam maserasi, maka hasil rendemen juga semakin tinggi, hal tersebut dikarenakan senyawa yang terekstrak akan semakin banyak.

4.2 Hubungan Parameter Perairan Dengan Metabolit Sekunder pada Lamun

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi organisme dan ditemukan dalam bentuk yang berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Rasyid, 2012).

Kondisi lingkungan yang buruk berpengaruh terhadap produksi metabolit sekunder pada organisme. Selain kondisi lingkungan yang buruk produksi metabolit sekunder dipengaruhi pula oleh organisme asosiasi, seperti ancaman predator, makro dan mikroorganisme patogen, kompetisi ruang dan makanan (Akhila, 2007). Adapun beberapa faktor lingkungan abiotik dan biotik yang dapat mempengaruhi stabilitas senyawa aktif yaitu suhu, radiasi cahaya, pH, salinitas dan keberadaan bahan kimia lain (Nurfadilah, 2013).

Data kualitas air yang diambil dalam penelitian ini meliputi suhu, salinitas, pH, dan DO (Tabel 4). Hasil analisis parameter tersebut menunjukkan nilai yang masih berada dalam kisaran nilai baku mutu kualitas perairan untuk biota laut menurut Kepmen – LH 51 Tahun 2004, tetapi suhu di Perairan Paciran melebihi baku mutu yang telah ditentukan.

Tabel 4. Parameter Kualitas Air

No.	Parameter	Satuan	Nilai	Baku Mutu (Kepmen LH, 2004)
1.	Suhu	ºC	31.6	28 – 30
2.	DO	mg/L	5.4	>5
3.	Salinitas	‰	30	33 – 34
4.	Ph	-	7.4	7 – 8.5

Suhu perairan Pantai Paciran yaitu 31.6°C, kondisi ini memperlihatkan bahwa suhu perairan di Pantai Paciran melebihi batas baku mutu yang telah ditetapkan. Suhu yang baik untuk mengontrol produktivitas padang lamun pada perairan adalah sekitar 20-30°C (Poedjirahajoe, 2013). Berdasarkan

data suhu dan DO menunujukkan hubungan bahwa meskipun suhu tinggi, nilai DO tetap tinggi karena adanya aktifitas fotosintesis dari lamun itu sendiri.

Setiawan (2014) menjelaskan bahwa faktor abiotik yang sangat mempengaruhi metabolit sekunder yaitu salinitas, cekaman salinitas menyebabkan jumlah air pada tanaman semakin berkurang. Keadaan air yang buruk dimungkinkan dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder pada lamun. Salinitas perairan di Pantai Paciran adalah 30 ppt, nilai ini masih berada dalam selang toleransi pertumbuhan dan perkembangan lamun. Lamun akan tumbuh dan berkembang dengan optimal pada perairan dengan salinitas 35 ppt (Dahuri *et al.* 2001).

4.3 Uji Fitokimia

Senyawa bioaktif dalam lamun *E. acoroides* dapat diketahui dengan melakukan uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui aneka golongan senyawa organik yang dihasilkan oleh organisme sebagai bentuk metabolit sekunder. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia *Enhalus acoroides*

Komponen Bioaktif	Ekstrak	Keterangan
Alkaloid	+	Terbentuk endapan putih
Flavanoid	+	Larutan berubah menjadi merah
Saponin	+	Terbentuk busa
Tannin	+	Larutan tidak berubah menjadi biru atau hijau kehitaman
Triterpenoid	-	Larutan tidak berubah menjadi hitam kecoklatan

Ket : (+) Ada (-) tidak ada

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

SAPON

TANIN

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Tabel 6. Perbandingan Profil Metabolit Sekunder Pada *E.acoroides*

Spesies	Senyawa metabolit sekunder	Peneliti
E. acoroides	Flavonoid, saponin, fenol hidrokuonin, steroid, dan tannin	Rumiantin, 2011
E. acoroides	Flavanoid, alkaloid, benedict dan nihidrin	Dewi, 2013
E. acoroides	Flavanoid, alkaloid, saponin dan tannin	Pratiwi, 2015

Adanya perbedaan hasil yang diperoleh antara ketiga ekstrak lamun *Enhalus acoroides* ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor seperti adanya bagian yang tidak ikut serta di ekstrak, serta kandungan senyawa yang berbeda-beda pada tiap jenisnya dikarenakan faktor lingkungan yang juga berbeda.

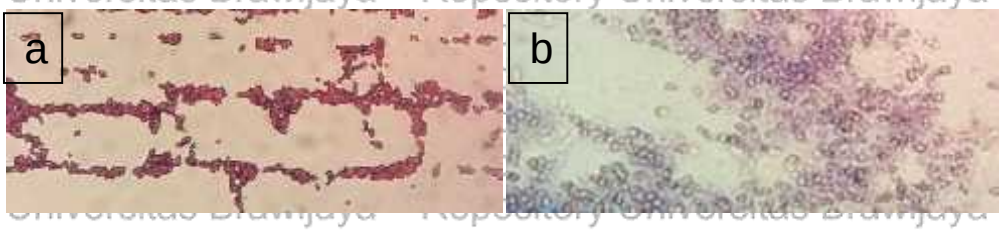
Selain metabolit sekunder yang di hasilkan oleh lamun itu sendiri, metabolit sekunder juga dapat dihasilkan oleh bakteri yang berasosiasi dengan lamun tersebut. Tumbuhan secara alami berhubungan dengan berbagai macam bakteri, salah satunya yaitu bakteri endofit. Endofit memiliki bermacam-macam produk senyawa antimikroba yang merupakan potensi penting dari sumber senyawa antimikroba. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan Lisdayanti (2013) bahwa isolat bakteri yang diambil dari lamun *E. acoroides* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

4.4 Kromatografi Kolom Terbuka

Kolom kromatografi terbuka dilakukan untuk memisahkan komponen senyawa dalam ekstrak. Sebanyak tiga ml ekstrak dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan menggunakan silica gel GF 60 sebanyak 35 gram sebagai fasa diam dan fasa geraknya menggunakan pelarut etil asetat:metanol dengan 11 perbandingan dan jumlah larutan 100 ml. Eluat

4.5 Pewarnaan Gram

Pada penelitian ini dilakukan pewarnaan gram untuk membuktikan bahwa bakteri yang di uji merupakan bakteri yang berbeda spesies menurut dari dinding selnya. Pewarnaan Gram atau metode Gram adalah suatu metode empiris untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni gram positif dan gram negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Dalam pewarnaan gram diperlukan empat reagen yaitu, zat warna utama (violet Kristal) sebagai warna primer, iodium sebagai penguat warna primer, safranin sebagai pewarna sekunder dan alcohol 70% sebagai pelarut lemak. Bakteri gram positif adalah bakteri yang mempertahankan zat warna metil ungu sewaktu proses pewarnaan Gram sedangkan bakteri gram negatif akan menghasilkan warna merah pada proses pewarnaan gram (Iskamto, 2012). Hasil yang didapatkan dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Bakteri Pewarnaan Gram (a) *S. typhi* (gram negative) (b) *S. aureus* (gram positif)

4.6 Aktifitas Antibakteri

Ekstrak kasar dan fraksi diuji tentang terhadap bakteri *S.aureus* dan *S. typhi* untuk mengetahui zona bening yang terbentuk. Zona bening yang paling besar dihasilkan oleh ekstrak kasar dengan konsentrasi 500 ppm terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. typhi* dengan rata – rata yaitu 3.56 mm

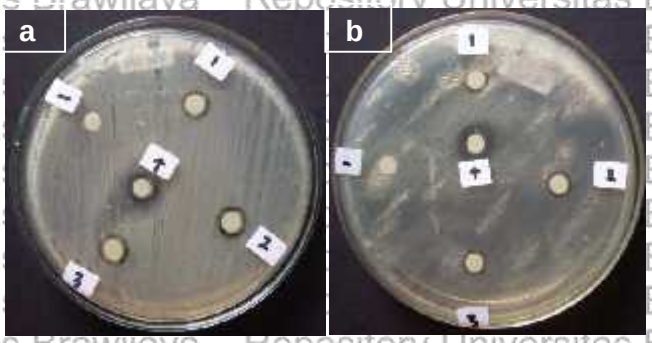
dan 2.1 mm. Zona bening paling kecil dihasilkan oleh fraksi 2 terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. typhi* dengan rata – rata yaitu 1.86 dan 1.8 mm. Hasil uji aktivitaas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Uji Aktivitas Antibakteri

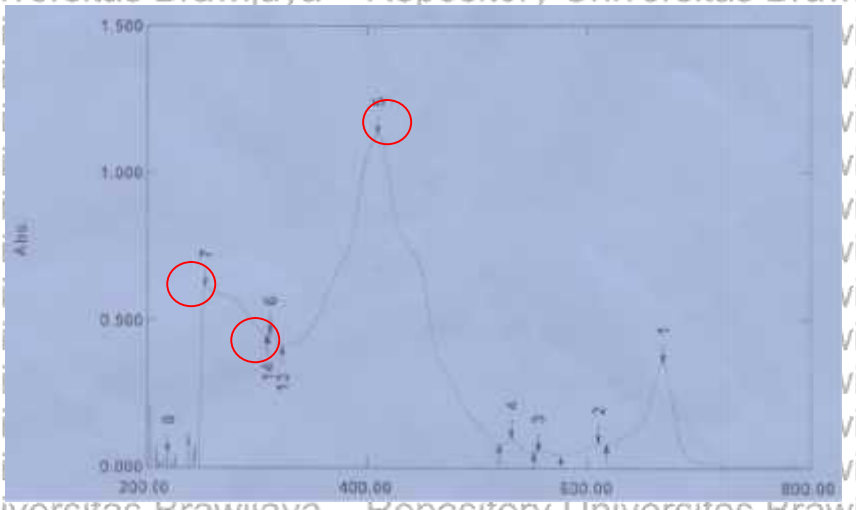
Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Inkubasi			
		24 Jam		48 Jam	
		S. aureus	*S. typhi*	*S. aureus*	*S. typhi*
		Diameter (mm)			
Ekstrak Kasar	125	2.7 ± 0.5	1.9 ± 0.51	0.96 ± 0.15	0
	250	3.1 ± 0.34	2.4 ± 0.56	1.16 ± 0.20	0
	500	3.56 ± 0.35	2.1 ± 0.55	1.4 ± 0.3	0
	Kloramfenikol 500 ppm (+)	7.56 ± 0.58	9.63 ± 0.76	5.3 ± 0.25	5.46 ± 0.11
	Aquades (-)	0	0	0	0
F1	125	1.36 ± 0.05	1.33 ± 0.15	0	0
	250	1.83 ± 0.05	1.76 ± 0.11	0	0
	500	2.03 ± 0.15	1.86 ± 0.05	0	0
	Kloramfenikol 500 ppm (+)	7.3 ± 0.75	6.73 ± 0.64	4.56 ± 0.56	4.36 ± 0.63
	Aquades (-)	0	0	0	0
F2	125	0.86 ± 0.14	0.73 ± 0.15	0	0
	250	1.76 ± 0.05	1.63± 0.05	0	0
	500	1.86 ± 0.11	1.8 ± 0.17	0	0
	Kloramfenikol 500 ppm (+)	5.6 ± 0.69	7.33 ± 0.57	3.63 ± 0.55	4.46 ± 0.80
	Aquades	0	0	0	0
F3	125	0	0	0	0
	250	0	0	0	0
	500	0	0	0	0
	Kloramfenikol 500 ppm (+)	6.7 ± 0.36	7.36 ± 0.72	4.8 ± 0.11	5.6 ± 0.62
	Aquades (-)				

Keterangan :
- Nilai di atas adalah rata – rata ± SD (n=3)
- F1 (fraksi 1) ; F2 (fraksi 2) ; F3 (fraksi 3)

Uji aktivitas antibakteri lamun *E. acoroides* dari Pantai Paciran Kabupaten Lamongan menunjukkan adanya zona bening sebagai indikator



Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Gambar 15. Hasil Uji UV - Visible

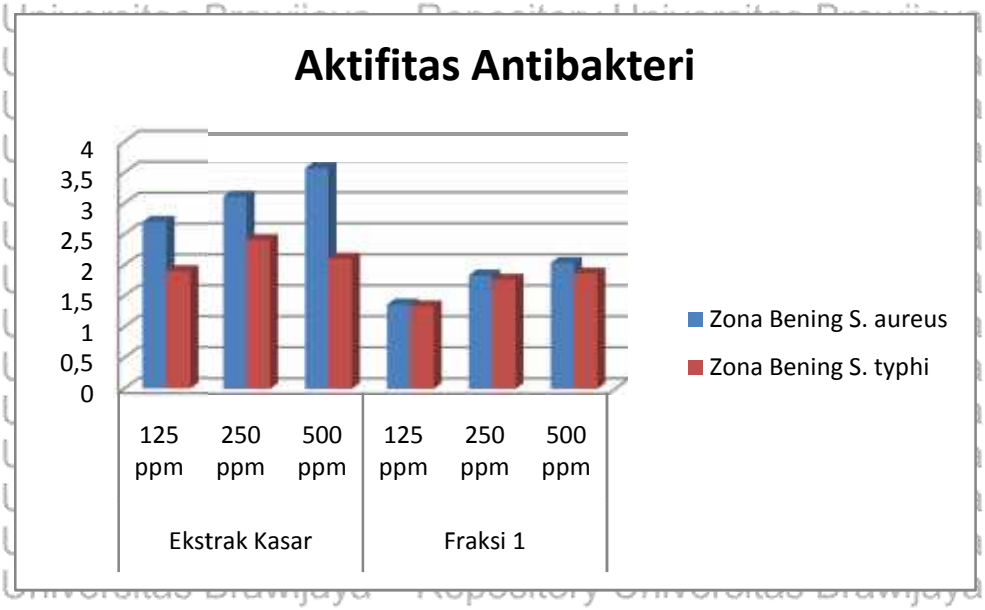
Tabel 8. Hasil Uji UV - Visible

No. Puncak	Panjang gelombang	Absorbansi	Nama Senyawa	Literatur
1	667.5	0.353	Klorofil a	(Arrohmah, 2007)
2	610	0.079	Fikosianin	(Sedjati *et al*, 2012)
3	555,5	0.052	Antosianin	(Farida dan Nisa, 2015)
4	531	0.094	Sianidin	(Ati *et al*, 2006)
5	409.5	1.13	Feofitin	(Ati *et al*, 2006)
6	312.5	0.451	Flavonon	(Sukadana, 2010)
7	255	0.611	Flavonoid kuersetin	(Fitrya, 2011)
8	220	0.048	Alkaloid indol	(Pramita *et al*,2013)

Pada hasil UV – Vis yang di dapatkan, tiga puncak tertinggi kemudian dianalisa dengan melihat panjang gelombang yang terserap. Pada fraksi 1 senyawa yang paling banyak yaitu golongan feofitin, flavonon dan flavonoid kuersetin. Sukadana (2010) menemukan adanya senyawa flavonoid golongan flavanon dari kulit akar awar – awar (*Ficus septica* Burm F) yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Vibrio cholera* dan *Escherechia coli.*

Parubak (2013) menemukan adanya senyawa flavanon pada tumbuhan akway (*Drimys beccariana* Gibbs) dan berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Escherechia coli* dan *Basilus subtilis*. Diduga aktivitas antibakteri dari lamun *Enhalus acoroides* salah satunya berasal dari senyawa flavanon. Flavanon merupakan turunan dari senyawa flavonoid yang sering dijumpai dalam bentuk aglikon tetapi beberapa glikosidanya telah banyak dikenal seperti, hesperidin dan naringin.

Berdasarkan data yang didapatkan, zona hambat terbesar paling besar terdapat pada ekstrak kasar. Hasil tersebut dapat di lihat melalui grafik di bawah ini.



Gambar 16. Grafik Uji Aktivitas Antibakteri

Berbagai metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai makanisme kerja yang bekerja secara sinergis. Aktivitas dari ekstrak herbal yang digunakan dalam pengobatan disebabkan adanya sinergisitas antara senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Uji fitokimia yang dilakukan terhadap

ekstrak kasar metanol, mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, saponin dan tannin. Sinergisitas memberikan aktivitas lebih baik serta menurunkan potensi toksisitas dari beberapa senyawa tunggal serta dapat mencegah terjadinya resistensi obat. Sinergisitas dari berbagai metabolit sekunder juga diklaim dapat mengurangi efek samping yang tidak diinginkan (Rijayanti *et al*, 2014).

Mekanisme kerja flavonoid bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak dinding sel dan membran sitoplasma. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan terjadi lisis (Santoso *et al*, 2012). Mekanisme kerja saponin bekerja dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel (Rijayanti *et al*, 2014). Mekanisme kerja alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Santoso *et al*, 2012).

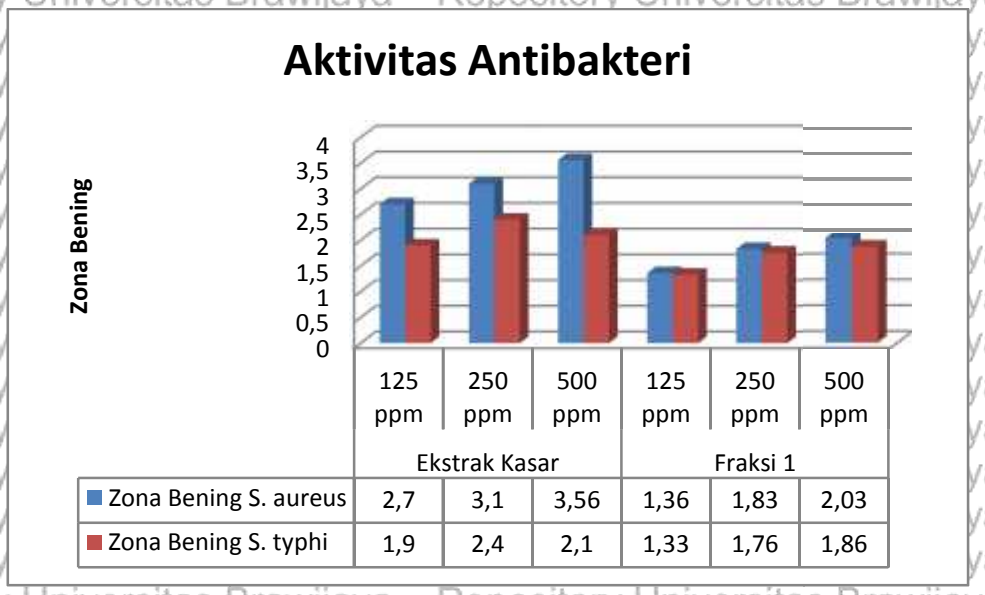
Mekanisme kerja tannin bekerja dengan cara mempresipitasi protein dan menyebakan membran sel bakteri mengkerut sehingga mengakibatkan perubahan permeabilitas sel menjadi menurun (Assidqi, *et al*. 2012).). Mekanisme kerja triterpenoid bekerja dengan cara bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada dinding luar sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga menyebabkan rusaknya porin. Porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa, sehingga mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat dan mengakibatkan kematian.

Menurut Hardoko dan Claudia (2013), triterpenoid diketahui merupakan senyawa antibakteri alami yang paling aktif dibandingkan dengan terpenoid, alkaloid, flavanoid dan fenol. Senyawa triterpenoid merupakan senyawa non – polar sehingga senyawa ini larut dengan pelarut non – polar seperti n-heksan.

Berdasarkan grafik diatas, efektifitas antibakteri ekstrak kasar lebih baik daripada ekstrak yang telah difraksi. Hal tersebut diduga karena pada hasil fraksi hanya terdapat satu senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada ekstrak kasar metanol senyawa aktif masih bergabung menjadi satu sehingga dapat bekerja secara sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil ini sesuai dengan hasil yang pernah dilaporkan bahwa aktifitas antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dari kepulauan Spermonde terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* aktivitas antibakteri ekstrak kasar lebih baik daripada fraksi (Haris *et al*, 2013).

4.8 Aktifitas Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Kemampuan senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga dapat dipengaruhi oleh sifat dinding sel bakteri itu sendiri. Pada penelitian ini, bakteri yang di gunakan yaitu *S. aureus* (gram positif) dan *S. typhi* (gram negatif), berdasarkan hasil yang di dapatkan zona bening yang terbentuk antara bakteri *S. aureus* dengan *S. typhi* yang paling baik adalah zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak kasar dan fraksi 1 terhadap bakteri *S. aureus* yaitu 3.56 mm dan *S. typhi* 2.1 mm (Gambar 17).



Gambar 17. Grafik Aktivitas Antibakteri

Kemampuan antibakteri ekstrak metanol *E. acoroides* terhadap *S. aureus* juga di tunjukkan pada penelitian Nurfadilah (2013) yang mengujikan ekstrak tersebut pada beberapa bakteri uji dan menunjukkan bahwa zona bening yang di hasilkan pada *S. aureus* lebih besar daripada bakteri uji yang lain. Kemampuan antibakteri ekstrak metanol *E. acoroides* terhadap *S. typhi* belum diketahui. Hal tersebut disebabkan karena bakteri Gram positif mempunyai struktur dinding sel yang lebih sederhana dibanding struktur bakteri Gram negative. Baktteri gram negatif mempunyai struktur yang lebih kompleks dengan lapisan yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam berupa lipopolisakarida (Santoso *et al*, 2012). *S. aureus* hanya memiliki lapisan peptidoglikan dan kandungan lipid yang rendah. Hal ini menyebabkan sel *S. aureus* akan mudah terdenaturasi sehingga senyawa aktif ekstrak lamun lebih mudah masuk ke dalam sel dan menemukan sasarannya.

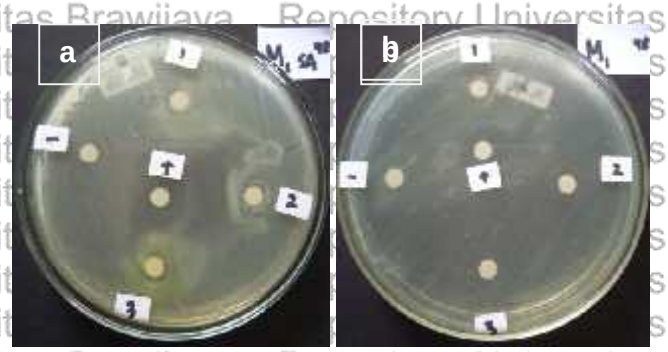
4.9 Sifat Antibakteri Bakteristatik dan Bakterisida

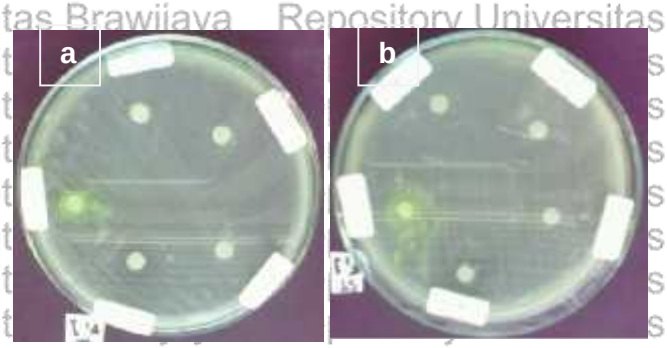
Ekstrak kasar dan fraksi menunjukkan adanya pengurangan zona hambatan seiring dengan penambahan masa inkubasi, pada penelitian ini menggunakan masa inkubasi 24 jam dan 48 jam. Zona bening pada ekstrak kasar terhadap bakteri *S. aureus* mengalami penurunan pada setiap konsentrasinya dengan rata – rata yaitu pada konsentrasi 125 ppm dari 2.7 mm menjadi 0.96 mm, pada konsentrasi 250 ppm dari 3.1 mm menjadi 1.16 mm dan pada konsentrasi 500 ppm dari 3.56 mm menjadi 1.4 mm. Zona bening pada ekstrak kasar terhadap bakteri *S. typhi* mengalami penutupan zona bening pada masa inkubasi 48 jam, hal tersebut juga terjadi pada fraksi 1 dan fraksi 2.

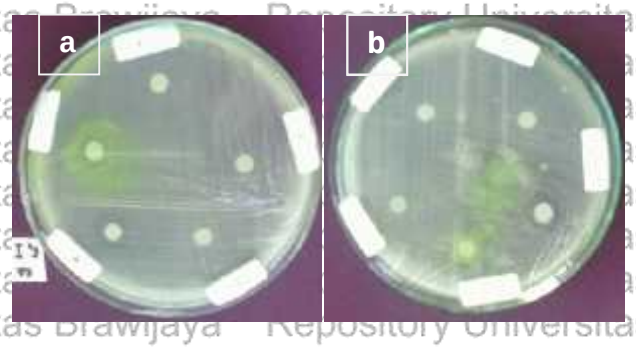
Besarnya diameter zona hambatan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kemampuan difusi bahan antimikroba ke dalam media dan interaksinya dengan mikroba yang diuji, jumlah mikroba yang diujikan, kecepatan tumbuh mikroba uji, dan tingkat sensitifitas mikroba terhadap bahan antimikroba (Dani *et al*, 2011).

Senyawa yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteriostatik dan senyawa yang mampu membunuh bakteri disebut bakterisida (Siregar *et al*, 2012). Syarat suatu zat dikatakan bakteristatik bila menunjukkan penyempitan zona bening setelah inkubasi 24 jam. Kemampuan bakterisida ditunjukkan apabila terbentuk zona bening yang tetap bening sampai waktu inkubasi 48 jam (Dani *et al*, 2011). Berdasarkan hasil pengamatan terhadap zona bening, di duga bahwa ekstrak kasar *E. acoroides* bersifat bakteriostatik.

Menurut Madigan *et al*. (2000), senyawa bakterostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Senyawa







Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat di simpulkan bahwa :

1. Ekstrak lamun *Enhalus acoroides* berpotensi sebagai antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan *S.aureus* dan *Salmonella typhi*.
2. Ekstrak kasar metanol memiliki senyawa alkaloid, flavanoid dan saponin, sedangkan berdasarkan uji UV – Vis ekstrak lamun yang paling berpotensi sebagai antibakteri yaitu senyawa flavonoid golongan flavanon dengan panjang gelombang 312.5.
3. Lamun *Enhalus acoroides* bersifat bakteriostatik karena mengalami penurunan zona bening pada inkubasi 48 jam.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai senyawa paling berpotensi sebagai antibakteri dan konsentrasi yang digunakan ditambahkan karena daya hambat yang dihasilkan sangatlah lemah.

DAFTAR PUSTAKA

Akhila JS, Shyamjith, Deepa, Alwar MC. 2007. Acute toxicity studies and determination of median lethal dose. *Science* 93(7):917-920.

Ali, M.S., Ravikumar S and Beula J.M. 2012. Bioactivity of seagrass against the dengue fever mosquito Aedes aegypti larvae. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. (2012)1-5.

Anwariyah, S. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Cymodocea Rotundata.* Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Arifuddin, M. 2013. Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun Dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar Terhadap Artemia salina (Linnaeus, 1758). Skripsi. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin, Makassar.

Arrohmah, 2007. Studi Karakteristik Klorofil Pada Daun Sebagai Material Photodetector Organic. Skripsi. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Assidqi, K., Wahyu T dan Setyawati S. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro. Journal of Marine and Science*. 113 – 124. 2012.

Ati, N.H., Puji R, Soenarto N dan Leenawaty N. 2006. Komposisi dan Kandungan Pigmen Tumbuhan Pewarna Alami Tenun Ikat di Kabupaten Timor Tengah Selatan, Propinsi Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Indo. J. Chem*. 2006, 6 (3), 325 - 331

Azkab, M.H. 2006. Ada Apa Dengan Lamun. Lipi: Jakarta. *Oseana*. Volume XXXI, Nomor 3, 2006 : 45 – 55.

Brooks, G.F., J.S. Butel dan S.A. Morse. 2005. *Medical Microbiology.* McGraw Hill: New York.

Dahuri, R., J. Rais, P.S. Ginting dan J.M. Sitepu. 2001. Pengelolaan Sumber Daya Wilayah Pesisir Dan Lautan Secara Terpadu. Paramita: Jakarta.

Dani, I.W., Kiki N dan Cut F.Z. 2011. Penghambatan Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan *Fusarium moniliforme* Oleh Ekstrak Salam (*Eugenia polyantha*) Dan Kunyit (*Curcuma domestica*). FMIPA Universitas Sumatra Utara : Medan.

Darmawati, S. 2008. Efek Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia, L*) Terhadap Zone Hambatan Pertumbuhan *Salmonella typhi* Penyebab Salmonellosis. Universitas Muhammadiyah Semarang: Semarang. Vol. 1, Nomor 1, 2008.

Dewi, Citra S.U. 2013. Potensi Lamun Jenis *Enhalus Acoroides* Dan *Thalassia Hemprichii* Dari Pulau Pramuka, Dki Jakarta Sebagai *Bioantifouling*. Thesis. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor.

El-Hady, HA., Daboor SM, Ghoniemy AE. 2007. Nutritive and antimicrobial profiles of some seagrasses from Bardawil Lake, Egypt. *Egyptian Journal Of Aquatic Research*. Vol 33(3); 103 – 110.

Elizabeth A., Velammd dan Jamila P. 2012. Phytochemicals of the Seagrass *Syringodium isoetifolium* and Its Antibacterial and Insecticidal Activiti. *Eropean Jurnal of Biological Science*. 4 (3); 63-67.

Fardiaz S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT. Raja Grafindo Persada; Jakarta.

Farida, R dan Fitri C.N. 2015. Ekstraksi Antosianin Limbah Kulit Manggis Metode *Microwave Assisted Extraction* (Lama Ekstraksi Dan Rasio Bahan : Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3 No 2 p.362-373, April 2015.

Fitriana, P. 2007. Hewan Laut, Buku Pengayaan Seri Flora dan Fauna. Ganeca Exact. Jakarta.

Fitrya. 2011. Flavonoid Kuersetin dari Tumbuhan Benalu Teh (*Scurullanatropurpureea BL. Dans*). *Jurnal Penelitian Sains*. Volume 14 Nomer 4(C) 14408.

Harborne Jb. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Institut Teknologi Bandung: Bandung.

Hardoko dan Claudia Abigail. 2013. Ekstraksi dan Purifikasi Senyawa Antibakteri dari Daging Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica L*). *NATURAL B*, Vol. 2, No. 1, April 2013.

Haris, A., Arniati, Sulaiman G dan Nurfadilah. 2013. Potensi Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Daun Lamun *Enhalus Acoroides* Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. Universitas Hasanuddin: Makassar.

Hartog, D.C. 1970. The seagrasses of the world. North Holland Publ. Co. Amsterdam: 275 pp.

Huda, N. 2001. Pemeriksaan Kinerja Spektrofotometer UV-Vis , GBC 911A Menggunakan Pewarna Tartrazine CL 19140. *Sigma Epsilon ISSN* 0853-9013. N0. 20-21 / Pebruari – Mei 2001.

Hudha, M.I., Elviyanto D, dan Muyassaroh. 2013. Minyak Kencur Dari Rimpang Kencur Dengan Variabel Jumlah Pelarut Dan Waktu Maserasi. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol.8, No.1, September 2013.

Hermawan A., Hana W dan Wiwiek T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Erlangga: Surabaya.

Iskamto, B. 2012. Pewarnaan sederhana, Negatif, Kapsul dan Gram. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Yogyakarta, Yogyakarta.

Ismarani, 2012. Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *CEFARS: Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*. Vol. 3 No. 2 Juni 2012.

Kannan, R.R Raja., Rajasekaran A dan Perumal A. 2010. Antibacterial potential of three seagrasses against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. (2010) 890-893.

Kasitowati, R.D. 2009. Potensi Anyijamur Sponge *fascapysinopsis sp.* Skripsi. Universitas Diponegoro: Semarang.

Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 51 . 2004.

Kristanti, A.N., Nanik S.A, Mulyadi T dan Bambang Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Airlangga University Press : Surabaya.

Kuo, J. 2007. A New Monoecious seagrass *Halophila sulawesii* (Hydrocharitaceae) from Indonesia. *Aquatic Botany* (in press).

Kusuma, S.A. 2009. *Staphylococcus aureus*. Makalah. Universitas Padjajaran: Bandung.

Lisdayanti, Eka. 2013. Potensi Antibakteri Dari Bakteri Asosiasi Lamun (Seagrass) Dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar. Skripsi. Universitas Hasanuddin Makassar : Makassar.

Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Karya ilmiah. [Laporan Hasil Penelitian] Departemen Kimia, FMIPA, Universitas Sumatera Utara. Medan.

Mukti, K. 2013. Analisis Spektokopi UV-Vis "Penentuan Konsentrasi Pemanganat ($KMn0_4$)". Universitas Sebelas Maret Surakarta : Semarang.

Nio, K. 1989. Zat-zat toksik yang secara alamiah ada pada tumbuhan nabati. Cermin Dunia Kedokteran 2 :58.

Nugrahaningtyas, K.D., Sabirin M dan Tutik D.W. 2005. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Rimpang Temu Ireng (Curcuma Aeruginosa Roxb.). *Biofarmasi* 3 (1): 32-38, Pebruari 2005, Issn: 1693-2242.

Nurfadillah. 2013. Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Lamun Dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. Skripsi. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin : Makassar.

Parubak, A.S. 2013. Senyawa Flavanoid Yang Bersifat Antibakteri Dari Akway (Drimys becariana. Gibbs). *Jurnal Chemystry. Prog*. Vol. 6 No. 1. Mei 2013

Pavia, D.L., G.M. Lampman, G.S. Kriz and R.G. Engel. 1995. Introduction to Organic Laboratory Techniques A Microscale Approach. Saunders College Phublishing, USA.

Phillips RC dan Menez EG. 1988. *Seagrasses*. Smithsonian Institution Press : Washington DC.

Pramita, D., Harlia dan Endah S. 2013. Karakteristik Senyawa Alkaloid Dari Fraksi Etil Asetat Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds). *Jurnal JKK*, Tahun 2013, Volume 2 (3), halaman 142 – 147. ISSN 2303 – 1077.

Pratiwi. B.H. Uji Fitokimia *Thalassi hemprichi* Dari Pantai Balekambang. Universitas Brawijaya: Malang.

Putri, A.P. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Lamun dugong (*Thallasia hemprichi*). Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor : Bogor.

Poedjirahajoe, E., Ni Putu D.M, Boy R.S dan Muhamad S. 2013. Tutupan Lamun Dan Kondisi Ekosistemnya Di Kawasan Pesisir Madasanger, Jelenga, Dan Maluk Kabupaten Sumbawa Barat. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, Vol. 5, No. 1, Hlm. 36-46.

Rahayu SS. 2009. Ekstraksi. http://www.chem-is-try.org/ [8 Februari 2015]

Rasyid, Abdullah. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus Hermanii*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 4, No. 2, Hlm. 360-368, Desember 2012.

Reynolds, J. E. F. 1996. Martindale, The Extra Pharmacopeia 31th Edition. The Royal Pharmaceutical Society Press. London. p : 114 – 117.

Rijayanti, R.P., Sri L dan Heru F.T. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang *(Mangifera Foetida L.)* Terhadap *Staphylococcus Aureus* Secara *In Vitro.* Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura : Pontianak.

Rostinawati, T. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Terhadap *Escherichia Coli, Salmonella Typhi Dan Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Agar. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran : Bandung.

Rumiantin O. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitikimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Enhalus acoroides.* Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan . Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Santoso, R.M., Depi P dan Purwanto. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare *(Momordica Charantia)* Dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus Viridians*. Jurusan Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ) : Jember.

Satari, M. H. 2008. *Multidrugs Resistance* (MDR) Bakteri Terhadap Antibiotik. Makalah. Universitas Padjajaran: Bandung.

Sedjati, S., Ervia Y dan Suryono. 2012. Profil Pigmen Polar dan Non Polar Mikroalga Laut *Spirulina* sp. dan Potensinya sebagai Pewarna Alami. *Jurnal ILMU KELAUTAN* September 2012. *Vol. 17 (3) 176*-181. *ISSN 0853-7291*

Singarimbun, M dan Sofian E. 1989. Metode Penelitian. LP3ES: Jakarta.

Setiawan, A.T. 2014. Efektifitas Daya Hambat Ekstrak Daun *Avicennia Alba, Avicennia Marina* Dan *Rhizophora Mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus.* Skripsi. Universitas Brawijaya : Malang.

Sirait. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung: Penerbit ITB.

Siregar, A.F., Agus S dan Delianis. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus Luteus. Journal Of Marine Research.* Volume 1, Nomor 2, Tahun 2012, Halaman 152-160

Suada, I Ketut. 2012. Keragaman Aktivitas Antifungi Biota Laut Terhadap *Fusarium Oxysporum* F.Sp. *Vanillae*, Penyebab Busuk Batang Vanili. *Jurnal Bumi Lestari,* Volume 12 No. 1, Februari 2012, hlm. 66 - 70

Sukadana. I.M. 2010. Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavanoid Dari Kulit Akar Awar – Awar (*Ficus Septica* Burm F). *Jurnal Kimia* 4(1), Januari 2010 : 63 – 70. ISSN 1907 – 9850.

Supriyadi, I.H. 2010. Pemetaan Padang Lamun Di Perairan Teluk Toli – Toli Dan Pulau Sekitarnya, Sulawesi Barat. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia (2010) 36(2): 147-164.*

Suswati, I dan Ayu J. 2008. Sensitivitas *Salmonella typhi* terhadap Kloramfenikol dan Sefriakson di RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan di RSUD Dr. Saiful Anwar Tahun 2008 – 2009. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang : Malang.

Todar, K. 2008. *Salmonella typhosa* (http:www.textbookofbacteriology.net Diakses pada tanggal 30 Maret 2015 pukul 21.00 WIB).

Tomascik T, Mah AJ, Nontji A, Moosa MK. 1997. The Ecology of the Indonesian Seas. Part II. Chapter 13 – 23. Periplus Edition (HK) Ltd.

Ulfa, F.S., Apri D.A danRomadhon. 2014. Uji Potensi Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ekstraksi Bertingkat Pada Lamun Dugong (*Thalassia Hemprichii*) Dari Perairan Jepara. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, Volume 3, Nomer 3, Tahun 2014, Halaman 32-39.

Victor, L. 1980. Antibiotics in Laboratory Test. The Williams and Wilkins Company, USA.

Warsa, U.C. 1994. Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi. Jakarta : Binarupa Aksara Halaman 103 - 110

Waycott M, McMahoon K, Mellors J, Calladine A, Kleine D. 2004. *A Guide Tropical Seagrasses of The Indo-West Pacific*. Townsville: James Cook University.

Wenno, P.A. 2004. Kolonisasi epifit pada daun lamun *Thalassia hemprichii* dan *Enhalus acoroides*. *Ichthyos*, 3(1):21-26.

$$\frac{1000\ mg}{1000\ ml} = \frac{10\ mg}{10\ ml} = \frac{0{,}01\ gr}{10\ ml}$$

Dalam pembuatan konsentrasi 500 ppm dilakukan pengenceran dengan mengambil 0,5 ml dari larutan stock kemudian dilarutkan dengan 0,5 ml DMSO 10%.

Konsentrasi 250 ppm :

V1 X M1 = M1 X M2

V1 X 1000 = 1 X 250

V1 = 0,25 ml

Dalam pembuatan konsentrasi 500 ppm dilakukan pengenceran dengan mengambil 0,25 ml dari larutan stock kemudian dilarutkan dengan 0,75 ml DMSO 10%.

Konsentrasi 125 ppm :

V1 X M1 = M1 X M2

V1 X 1000 = 1 X 125

V1 = 0,125 ml

Dalam pembuatan konsentrasi 500 ppm dilakukan pengenceran dengan mengambil 0,125 ml dari larutan stock kemudian dilarutkan dengan 0,875 ml DMSO 10%.

Lampiran 4. Aktivitas antibakteri pada masa inkubasi 1 x 24 Jam

Ekstrak	Bakteri	Ulangan	Zona Bening				
			125	250	500	Kontrol +	Kontrol -
Kasar	S. aureus	1	3.2	3.5	3.9	6.9	0
		2	2.2	2.9	3.2	8	0
		3	2.7	2.9	3.6	7.8	0
		Rerata	**2.7**	**3.1**	**3.56**	**7.56**	**0**
	S. typhi	1	2.5	2.9	2	8.8	0
		2	1.6	2.6	1.6	10.3	0
		3	1.6	1.8	2.7	9.8	0
		Rerata	**1.9**	**2.4**	**2.1**	**9.63**	**0**
Fraksi 1	S. aureus	1	1.3	1.8	2.2	6.6	0
		2	1.4	1.8	1.9	8.1	0
		3	1.4	1.9	2	7.2	0
		Rerata	**1.36**	**1.83**	**2.03**	**7.3**	**0**
	S. typhi	1	1.2	1.7	1.9	6	0
		2	1.3	1.7	1.8	7.2	0
		3	1.5	1.9	1.9	7	0
		Rerata	**1.33**	**1.76**	**1.86**	**6.73**	**0**
Fraksi 2	S. aureus	1	0.8	1.7	2	6	0
		2	1	1.8	1.8	4.8	0
		3	0.8	1.8	1.8	6	0
		Rerata	**0.86**	**1.76**	**1.86**	**5.6**	**0**
	S. typhi	1	0.7	1.6	1.9	7	0
		2	0.6	1.6	1.6	7	0
		3	0.9	1.7	1.9	8	0
		Rerata	**0.73**	**1.63**	**1.8**	**7.33**	**0**
Fraksi 3	S. aureus	1	0	0	0	6.3	0
		2	0	0	0	6.8	0
		3	0	0	0	7	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**6.7**	**0**
	S. typhi	1	0	0	0	8.2	0
		2	0	0	0	6.9	0
		3	0	0	0	7	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**7.36**	**0**

Repository Universitas Brawijaya
REPOSITORY.UB.AC.ID
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 5. Aktivitas antibakteri pada masa inkubasi 2 x 24 Jam

Ekstrak	Bakteri	Ulangan	Zona Bening				
			125	250	500	Kontrol +	Kontrol -
Kasar	S. aureus	1	1.1	1.4	1.7	5.3	0
		2	0.8	1	1.1	5.1	0
		3	1	1.1	1.4	5.6	0
		Rerata	**0.96**	**1.16**	**1.4**	**5.3**	**0**
	S. typhi	1	0	0	0	5.6	0
		2	0	0	0	5.4	0
		3	0	0	0	5.4	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**5.46**	**0**
Fraksi 1	S. aureus	1	0	0	0	4.2	0
		2	0	0	0	5.2	0
		3	0	0	0	4.3	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**4.56**	**0**
	S. typhi	1	0	0	0	4	0
		2	0	0	0	5.1	0
		3	0	0	0	4	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**4.36**	**0**
Fraksi 2	S. aureus	1	0	0	0	3	0
		2	0	0	0	3.9	0
		3	0	0	0	4	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**3.63**	**0**
	S. typhi	1	0	0	0	4	0
		2	0	0	0	4	0
		3	0	0	0	5.4	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**4.46**	**0**
Fraksi 3	S. aureus	1	0	0	0	4.8	0
		2	0	0	0	4.8	0
		3	0	0	0	5	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**4.8**	**0**
	S. typhi	1	0	0	0	6.1	0
		2	0	0	0	4.9	0
		3	0	0	0	5.8	0
		Rerata	**0**	**0**	**0**	**5.6**	**0**