

**PENGARUH POLARITAS JENIS PELARUT TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI LAMUN *Enhalus acoroides* TERHADAP BAKTERI  
*Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN**

**JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN KELAUTAN**

**Oleh:**

**DEVI NOPITA SIEK**

**NIM. 115080600111009**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

**PENGARUH POLARITAS JENIS PELARUT TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI LAMUN *Enhalus acoroides* TERHADAP BAKTERI  
*Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN  
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN KELAUTAN**

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

**Oleh:**

**DEVI NOPITA SIEK**

**NIM. 115080600111009**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

SKRIPSI

PENGARUH POLARITAS JENIS PELARUT TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI LAMUN *Enhalus acoroides* TERHADAP BAKTERI  
*Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus*

Oleh:

DEVI NOPITA SIEK

NIM. 115080600111009

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 3 Juli 2014  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

(Dr.Ir.M. Firdaus, MP)

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal:

Dosen Penguji II

(Rarasrum Dyah K, S.Kel, M.Sc)

NIK. 2013048609152001

Tanggal:

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Ade Yamindago, S.Kel, M.Sc, MP)

NIP. 19840521 200801 1 002

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

(Feni Iranawati, S.Pi, M.Si, Ph.D)

NIP. 19740812 200312 2 001

Tanggal:

Mengetahui,  
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Daduk Setyohadi, MP)

NIP. 19630608 198703 1 003

Tanggal:

**PERNYATAAN ORISINILITAS**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

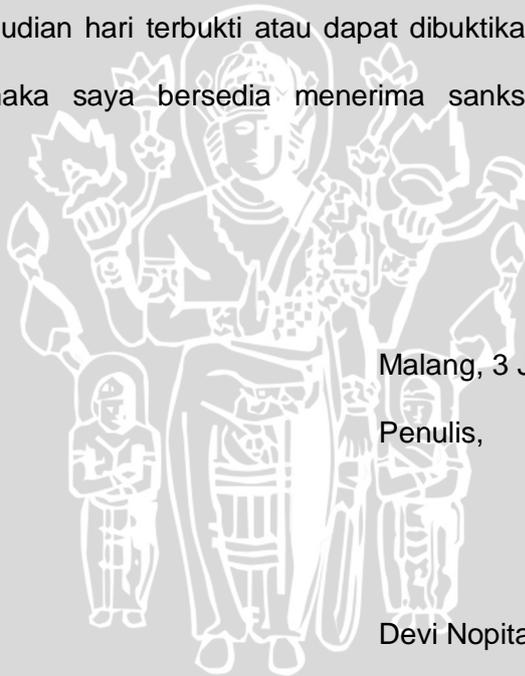
**Nama : Devi Nopita Siek**

**NIM : 115080600111009**

**Prodi : Ilmu Kelautan**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Laporan Skripsi ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya yang pernah ditulis, pendapat, atau dibentuk orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan laporan ini hasil jiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



Malang, 3 Juli 2015

Penulis,

Devi Nopita Siek

NIM. 115080600111009

## 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 memberi dukungan, materi, motivasi dan doa restu selama penyusunan skripsi.
3. Ade Yamindago, S.Kel, M.Sc, selaku Dosen Pembimbing I Skripsi yang memberi motivasi, masukan dan bimbingan selama proses penyusunan laporan.
4. Feni Iranawati, S.Pi, M.Si, Ph.D, selaku Dosen Pembimbing II Skripsi yang selalu memberi masukan, solusi, pengarahan, dan bimbingan selama proses penyusunan laporan.
5. Dr.Ir.M. Firdaus, MP selaku Dosen Penguji I yang memberi masukan dan pembenahan dalam penyusunan laporan.
6. Rarasrum Dyah K, S.Kel., M.Sc selaku Dosen Penguji II yang memberi masukan dan pembenahan dalam penyusunan laporan.
7. Teman-teman seperjuangan *Enhalus acoroides* (Doni, Betzi, Yafis, Ucil) atas kerja sama dan bantuan selama melakukan penelitian.
8. Mariners UB dan Nur Laili Mufidah yang selalu menerima curhatan memberi hiburan dan dukungan.
9. Keluarga besar GREEN ZONE 2011 yang memberi saya banyak pengalaman berorganisasi dan kekeluargaan.

Malang, 3 Juli 2015

Penulis

## RINGKASAN

**DEVI NOPITA SIEK.** Pengaruh Polaritas Jenis Pelarut Terhadapaktivitas Antibakteri Lamun *Enhalus acoroides* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* Dan *Staphylococcus aureus* (dibimbing oleh **Ade Yamindago, S.Kel., M.Sc.** dan **Feni Iranawati, S.Pi, M.Si, Ph.D.**)

---

Tumbuhan berbunga (Angiospermae) yang mampu beradaptasi secara penuh di perairan yang salinitasnya cukup tinggi atau hidup terbenam di dalam air adalah lamun. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada lamun diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Dalam proses penarikan kandungan senyawa metabolit sekunder pada lamun bergantung pada jenis pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi.

Tujuan dari Penelitian ini yaitu untuk mengetahui komposisi senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat pada lamun *Enhalus acoroides* dari Pantai Paciran, Lamongan, mengetahui daya hambat terbaik yang terbentuk dari ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan jenis pelarut yang berbeda serta untuk mengetahui sifat antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

Pengambilan sampel daun dilakukan di Pantai Paciran, Kabupaten Lamongan, Jawa Timur pada bulan Maret 2015. Metode ekstraksi daun lamun yaitu maserasi selama 2x24 jam menggunakan pelarut methanol (polar), etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar) dengan perbandingan 1:8. Metode uji antibakteri menggunakan *paper disk* yang dilakukan secara *in vitro*. Data diameter zona hambat yang didapatkan dianalisis secara deskriptif.

Hasil yang didapatkan dari penelitian yaitu ekstrak kasar dengan pelarut metanol, etil asetat dan n-heksana dengan konsentrasi 500 ppm adalah konsentrasi ekstrak yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan kategori lemah. Diameter zona hambat rata-rata pada konsentrasi 500 ppm, 250 ppm dan 125 ppm tidak lebih besar daripada kontrol positif. Bakteri yang paling rentan terhadap ekstrak daun lamun dengan ketiga pelarut adalah *Staphylococcus aureus*. Sifat antibakteri ekstrak kasar lamun *Enhalus acoroides* adalah *bacteriostatic*.

## KATA PENGANTAR

Segala puji penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan nikmat-Nya, Shalawat dan salam juga tercurahkan kepada Nabiullah Muhammad SAW. Alhamdulillah atas izin dan petunjuk-Nya laporan Skripsi dengan judul “Pengaruh Polaritas Jenis Pelarut Terhadapaktivitas Antibakteri Lamun *Enhalus acoroides* Terhadap Bakteri *Salmonella typhi* Dan *Staphylococcus aureus*” dapat terselesaikan.

Lamun merupakan sumber daya hayati laut yang tersebar hampir diseluruh pantai Indonesia, namun masih sangat kurang informasi potensi terdapat pada lamun yang nantinya dapat dimanfaatkan lebih lanjut secara modern seperti sebagai anti bakteri atau obat-obatan. Laporan ini membahas tentang efektifitas ekstrak 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 mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan dapat menyempurnakan isi dari laporan ini. Semoga dapat bermanfaat bagi pengembangan dunia kelautan.

Malang, 3 Juli 2015

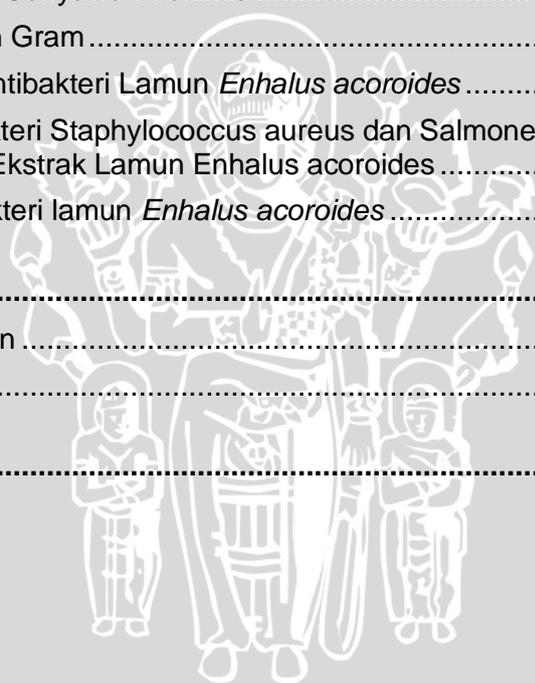
Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINILITAS .....	iii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	iv
RINGKASAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Kegunaan.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	6
2.1.1 Deskripsi Dan Klasifikasi .....	6
2.1.2 Habitat.....	7
2.2 Karakteristik Bakteri Uji .....	8
2.2.1 <i>Salmonella typhi</i> .....	8
2.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
2.3 Polaritas Pelarut.....	10
2.3.1 Senyawa Polar .....	10
2.3.2 Senyawa Semi Polar .....	11
2.3.3 Senyawa Non Polar.....	11
2.4 Senyawa Aktif Pada Lamun .....	12
2.5 Analisis Senyawa Aktif Lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	13
2.5.1 Ekstraksi.....	13
2.5.2 Uji Fitokimia.....	14
2.5.3 Uji Aktivitas Antibakteri .....	17



<b>3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>19</b>
3.1	Waktu dan Tempat.....	19
3.3	Alat dan Bahan.....	21
3.3.1	Pengambilan Sampel dan Data Parameter Lingkungan.....	22
3.3.2	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	23
3.3.3	Ekstraksi Lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	23
3.3.4	Uji Fitokimia.....	24
3.3.5	Uji Aktivitas Antibakteri.....	25
3.4.6	Analisis Data.....	29
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
4.1	Rendemen Ekstrak Lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	30
4.2	Senyawa Bioaktif Pada Lamun.....	32
4.3	Komponen Senyawa Fitokimia.....	33
4.4	Pewarnaan Gram.....	39
4.5	Aktivitas Antibakteri Lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	40
4.5.1	Respon Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella Typhi</i> Terhadap Ekstrak Lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	47
4.5.2	Sifat antibakteri lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	49
<b>5.</b>	<b>PENUTUP.....</b>	<b>52</b>
5.1	Kesimpulan.....	52
5.2	Saran.....	52
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>53</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Enhalus acoroides</i> .....	7
Gambar 2. <i>Salmonella typhi</i> (Fardiaz, 1993).....	8
Gambar 3. <i>Staphylococcus aureus</i> (Fardiaz, 1993) .....	9
Gambar 4. Peta Lokasi Pengambilan Sampel.....	19
Gambar 5. Prosedur Penelitian.....	20
Gambar 6. Hasil ekstraksi lamun <i>Enhalus acoroides</i> .....	30
Gambar 7. Hasil Uji Fitokimia Alkaloid .....	36
Gambar 8. Hasil Uji Fitokimia Flavonoid .....	36
Gambar 9. Hasil Uji Fitokimia Saponin.....	37
Gambar 10. Hasil Uji Fitokimia Tanin.....	38
Gambar 11. Hasil Uji Fitokimia Triterpenoid.....	38
Gambar 12. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri. (1) Bakteri <i>S.aures</i> (2) Bakteri <i>S.typhi</i> .....	39
Gambar 13. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	42
Gambar 14. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon (Prajitno, 2007).....	45
Gambar 15. Grafik sifat antibakteri ekstrak lamun <i>Enhalus acoroides</i> terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	50
Gambar 16. Grafik sifat antibakteri ekstrak lamun <i>Enhalus acoroides</i> terhadap <i>Salmonella typhi</i> .....	50

**DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Referensi senyawa yang dapat ditarik oleh ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut berbeda .....15

Tabel 2. Alat, Spesifikasi dan Fungsinya .....21

Tabel 3. Bahan, Spesifikasi dan Fungsinya.....22

Tabel 4. Referensi uji daya hambat ekstrak lamun *Enhalus acoroides* pada beberapa bakteri.....29

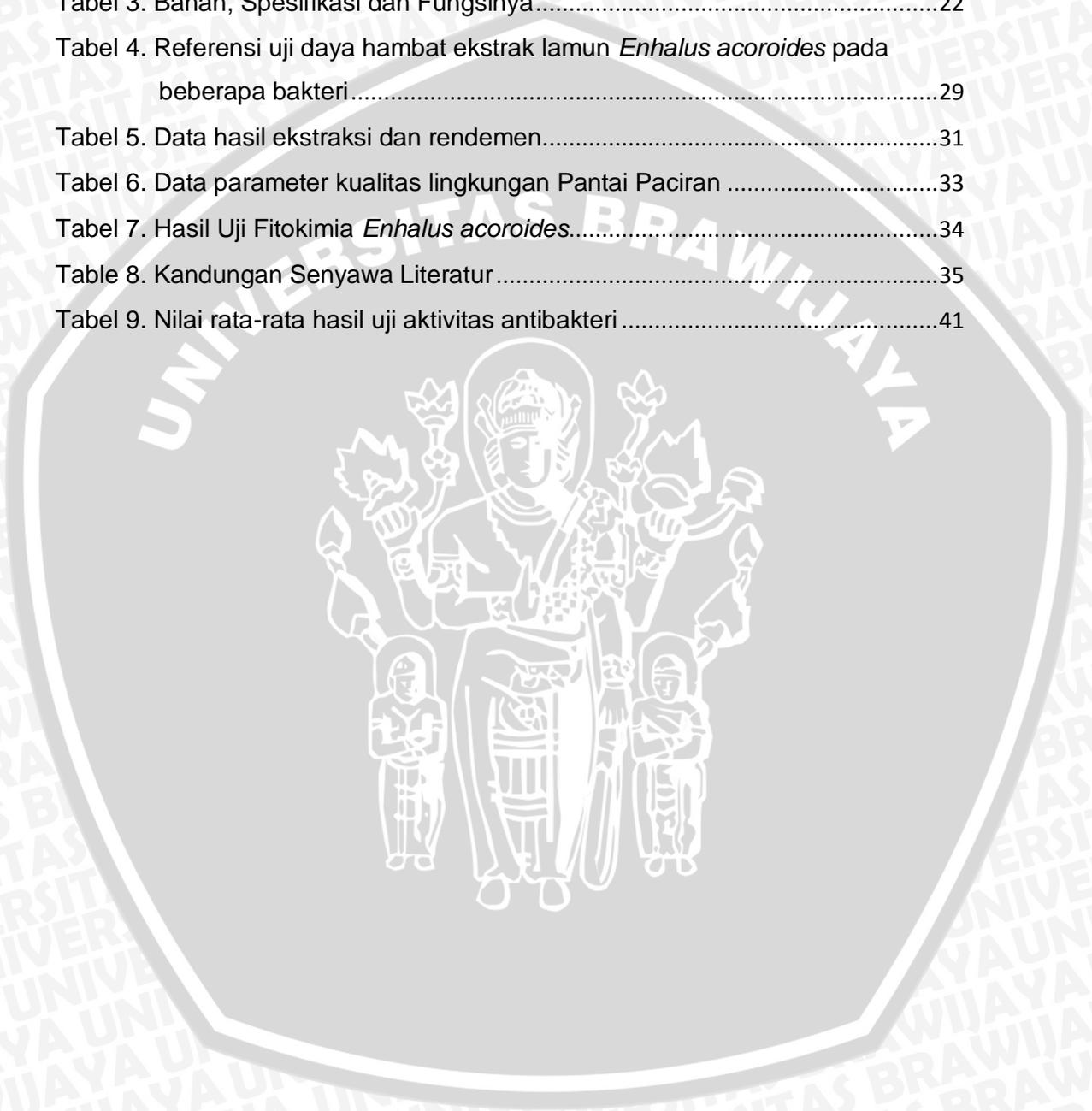
Tabel 5. Data hasil ekstraksi dan rendemen.....31

Tabel 6. Data parameter kualitas lingkungan Pantai Paciran .....33

Tabel 7. Hasil Uji Fitokimia *Enhalus acoroides*.....34

Table 8. Kandungan Senyawa Literatur .....35

Tabel 9. Nilai rata-rata hasil uji aktivitas antibakteri .....41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Larutan DMSO 10% .....58

Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi .....58

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Media .....60

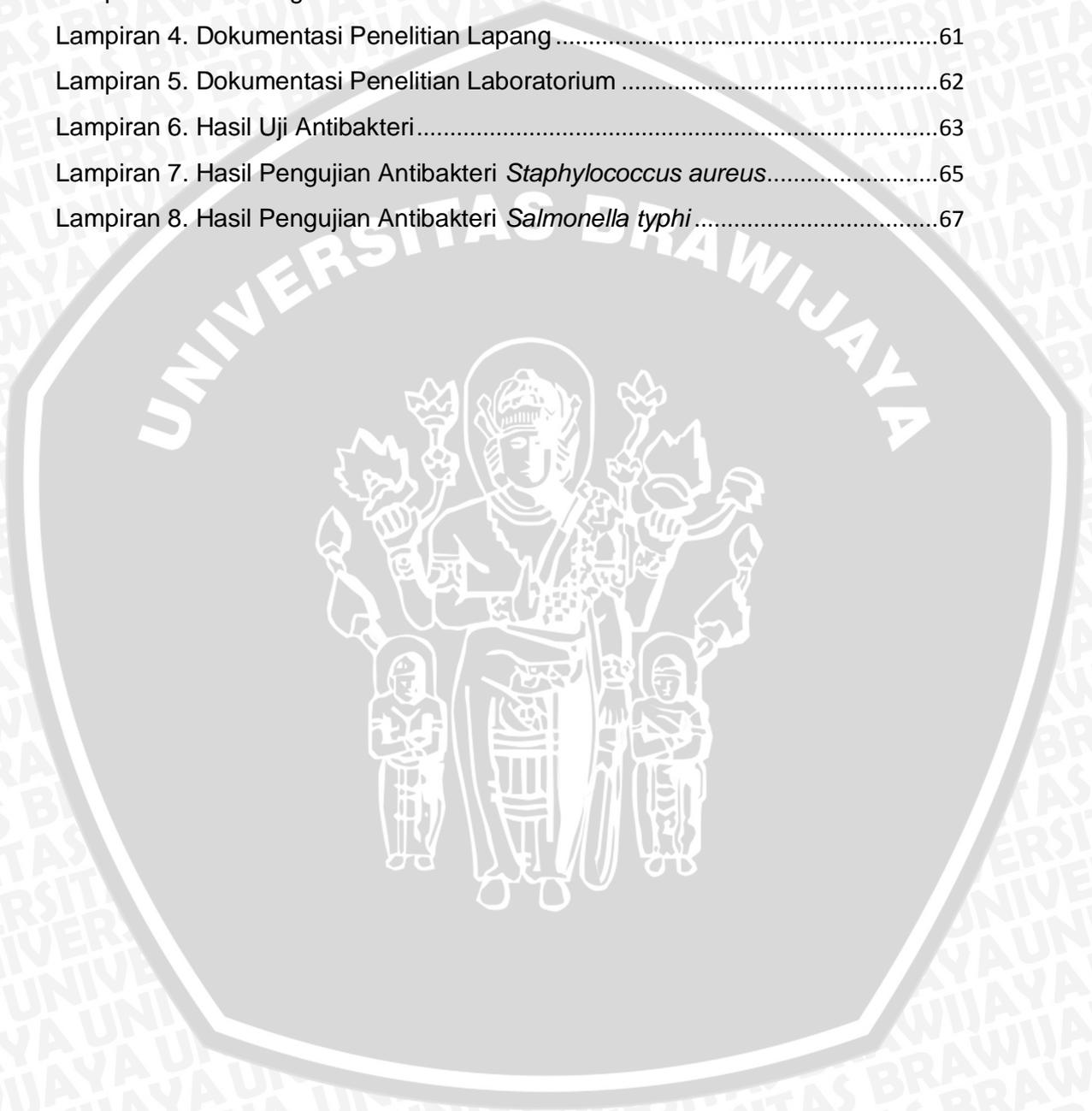
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian Lapang .....61

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian Laboratorium .....62

Lampiran 6. Hasil Uji Antibakteri.....63

Lampiran 7. Hasil Pengujian Antibakteri *Staphylococcus aureus*.....65

Lampiran 8. Hasil Pengujian Antibakteri *Salmonella typhi* .....67



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tumbuhan berbunga (Angiospermae) yang mampu beradaptasi secara penuh di perairan yang salinitasnya cukup tinggi atau hidup terbenam di dalam air adalah lamun. Komunitas lamun memegang peranan penting baik secara ekologis, maupun biologis di daerah pantai dan estuaria. Disamping itu juga mendukung aktifitas perikanan, komunitas kerang-kerangan dan biota avertebrata lainnya. Fungsi ekologis ekosistem lamun adalah sebagai produsen primer, pendaur unsur hara, penstabil substrat, penangkap sedimen, habitat dan makanan serta tempat berlindung organisme laut lainnya. Selain itu, ekosistem lamun juga berhubungan erat dengan terumbu karang dan mangrove, sehingga penting artinya bagi pengelolaan perairan pantai secara terpadu.

Lamun memiliki produktivitas yang lebih tinggi melebihi produktivitas dari beberapa tanaman darat misalnya gandum, jagung, beras dan tebu. Produktivitas yang tinggi dari lamun ini, belum diimbangi dengan pemanfaatannya secara optimal (Montano *et al.*, 1999). Penelitian tentang lamun dan ekosistem laut selama ini banyak difokuskan terhadap aktivitas eksplorasi, budidaya dan pariwisata, namun penelitian tentang pemanfaatan lamun bagi manusia terutama komponen bioaktifnya masih sangat sedikit dipelajari.

Lamun seperti organisme lain yang mampu memproduksi metabolit primer dan sekunder, sehingga berpotensi digunakan sebagai sumber obat-obatan. Heilmeimer dan Zirdorn (2010) telah meneliti adanya kandungan metabolit sekunder pada lamun dari kawasan Mediterania yaitu *Posedonia oceanica*. Hal ini menunjukkan bahwa lamun berpotensi memiliki kandungan bioaktif dan antibakteri alami. Qi *et al.*, (2008) dalam penelitiannya menemukan

kandungan bahan aktif potensial seperti flavonoid dan steroid untuk menghambat proses penempelan larva (*antilarva*) gastropoda jenis *Bugula neritina* pada bagian daunnya, serta menghambat proses predasi daun (*antifeedant*) oleh *Spodoptera litura*. Hal tersebut didukung oleh penelitian Ali *et al.*, (2012) yang menemukan kandungan senyawa bioaktif pada lamun *Enhalus acoroides* yang bersifat sebagai antibakteri, yaitu flavonoid, fenol, tannin, steroid dan saponin yang terdapat pada semua bagian lamun.

Dalam proses penarikan kandungan senyawa metabolit sekunder pada lamun bergantung pada jenis pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi. Menurut Bhakuni dan Rawat (2005) dalam Fajarullah (2013), pemisahan senyawa yang luas dari suatu campuran dapat diperoleh pada proses ekstraksi dengan pelarut organik. Pelarut organik yang umumnya digunakan ialah metanol, etanol, etil asetat, n-heksana, dan kloroform. Perbedaan jenis pelarut akan mempengaruhi karakteristik dari metabolit sekunder yang terdapat pada lamun. Fajarullah (2013) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa ekstraksi lamun *Thalassodendron ciliatum* dengan pelarut metanol memiliki rendemen ekstrak tertinggi yakni 10,09% dan memiliki kandungan metabolit sekunder tertinggi sebanyak empat senyawa yaitu tanin, saponin, triterpenoid dan steroid. Pelarut kloroform memiliki rendemen ekstrak 1,14% dan memiliki kandungan metabolit sekunder sebanyak tiga senyawa yaitu saponin, triterpenoid dan steroid. Pelarut n-heksana memiliki rendemen ekstrak yang tidak begitu tinggi yakni 0,08% tanpa ada satupun senyawa metabolit sekunder yang ditemukan.

Banyak metabolit dari lamun telah diketahui aktif secara biologis dan merupakan biomedis penting serta bisa dimanfaatkan sebagai obat yang potensial. Dewasa ini penggunaan obat alami sangat dibutuhkan karena semakin banyaknya bakteri penyebab penyakit yang telah resisten terhadap berbagai antibiotik. Resistensi bakteri patogen diketahui tidak hanya terhadap satu jenis

antibakteri saja, melainkan terhadap beberapa jenis antibakteri. Antibakteri adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup baik mikroorganisme maupun makroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan (*Bacteriostatic*) dan bahkan mematikan bakteri (*Bactericidal*) (Arianta, 2014). Pada bakteri *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid diketahui sudah resisten terhadap ampisilin, penisilin, dan kotrimoksazol. Bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibakteri ini dikenal dengan bakteri Multi Drug Resistent (Hadinegoro, 1999 dalam Pringganes, 2009). Pada bakteri *Staphylococcus aureus* dikenal sebagai MRSA (Metisilin Resisten *S. aureus*) karena bakteri ini resisten terhadap antibiotik termasuk penisilin dan turunannya (Metisilin, Oxacilin, dicloxacilin, Nafcilin dan Sephalosporin), oleh karena itu perlu dikembangkan suatu zat yang memiliki potensi sebagai antibakteri dengan menggunakan ekstrak dari tanaman laut (lamun) (Satari *et al.*, 2008).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri pada lamun *Enhalus acoroides* dengan menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu metanol (polar), etil asetat (semipolar) dan n-heksana (non polar) yang masih belum ada dan memberikan informasi mengenai potensi bioaktif yang terdapat pada lamun *Enhalus acoroides* terutama untuk bakteri MDR yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

## 1.2 Perumusan Masalah

Tingkat kepolaran pelarut mempengaruhi kandungan senyawa aktif yang dapat ditarik oleh lamun. Penelitian Dewi (2012) menunjukkan senyawa yang dihasilkan oleh lamun *Enhalus acoroides* dari pelarut n-heksana berupa senyawa asam palmitat dan sakarosteon, sedangkan dari pelarut etil asetat berupa senyawa stigmasterol, sitosterol dan steroid.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Fajarullah *et al.*, (2013) rendemen ekstrak *Thalassodendron ciliatum* yang dihasilkan oleh fraksi pelarut polar lebih besar bila dibandingkan dengan pelarut semipolar dan non polar. Hasil ini sesuai seperti yang dinyatakan Salamah *et al dalam* Priyanto (2012) menunjukkan bahwa rendemen ekstrak hasil maserasi dengan pelarut yang berbeda akan menghasilkan rendemen yang berbeda dan nilai rendemen yang dihasilkan dari ekstrak metanol diduga dipengaruhi sifat larutan tersebut dalam melarutkan komponen bahan aktif. Komponen bahan aktif pada lamun diketahui mempunyai manfaat sebagai antibakteri.

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

1. Komposisi senyawa aktif apa saja yang terkandung dalam lamun *Enhalus acoroides*?
2. Apakah aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh lamun *Enhalus acoroides* berbeda untuk setiap pelarut?
3. Bagaimana sifat antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dalam menghambat aktivitas bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*?

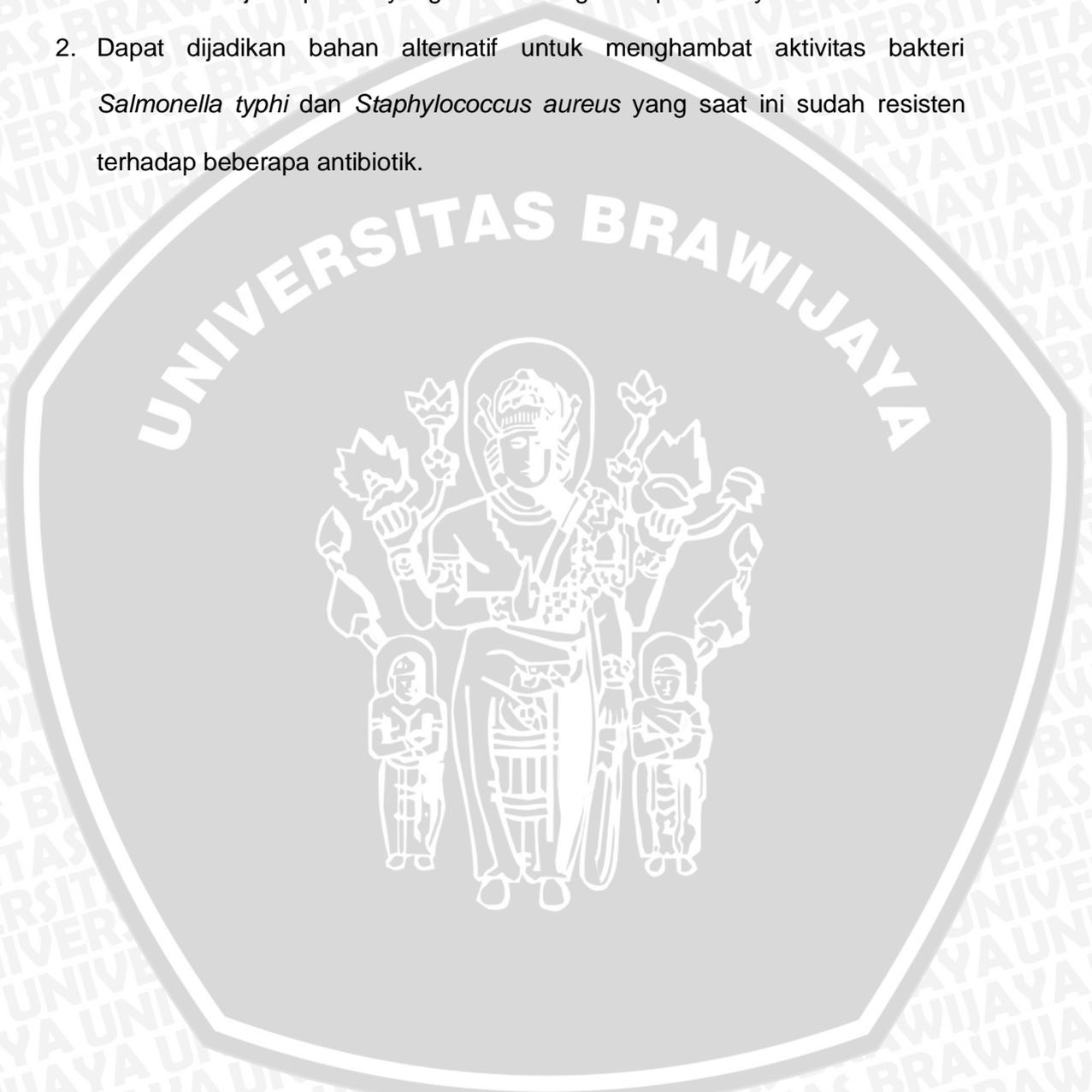
### 1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui komposisi senyawa bioaktif yang terdapat pada lamun *Enhalus acoroides*.
2. Untuk mengetahui daya hambat terbesar yang terbentuk dari ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan jenis pelarut yang berbeda.
3. Untuk mengetahui sifat antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

#### 1.4 Kegunaan

Penelitian ini diharapkan dapat memberi pengetahuan tentang :

1. Efektivitas ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dalam membentuk daya hambat berdasarkan jenis pelarut yang berbeda tingkat kepolarnya.
2. Dapat dijadikan bahan alternatif untuk menghambat aktivitas bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang saat ini sudah resisten terhadap beberapa antibiotik.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Lamun *Enhalus acoroides*

#### 2.1.1 Deskripsi Dan Klasifikasi

Menurut Waycott (2004) klasifikasi lamun *Enhalus acoroides* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta (Angiospermae)

Class : Liliopsida

Sub-class : Alismatidae

Order : Alismatales

Family : Hydrocharitaceae

Genus : *Enhalus*

Spesies : *Enhalus acoroides*

*Enhalus acoroides* merupakan salah satu jenis lamun yang terdapat di Indonesia. *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. *Enhalus acoroides* memiliki rizoma yang tebal (diameter sekitar 1,5 cm), berwarna gelap dan berbulu dengan akar berwarna pucat (Waycott, 2004). Morfologi lamun *Enhalus acoroides* dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** *Enhalus acoroides*

Sumber : (<http://ian.umces.edu/imagelibrary>)

### 2.1.2 Habitat

Lamun *Enhalus acoroides* adalah salah satu jenis lamun di perairan Indonesia yang umumnya hidup di sedimen berpasir atau berlumpur dan daerah dengan aktivitas biologi yang tinggi, sehingga lamun jenis ini dapat beradaptasi dengan perairan keruh akibat tingginya laju siltasi (kekeruhan) dari daratan jika sinar matahari dan unsur-unsur nutrisi yang diperlukan masih mencukupi (Susetiono 2004 dalam Sari 2013).

*Enhalus acoroides* merupakan spesies lamun yang paling umum ditemukan pada daerah rata-rata terumbu dan terdapat di daerah terlindungi oleh mangrove dan membentuk padang rumput yang padat dan luas dengan kanopi tertutup menyediakan habitat penting untuk spesies lainnya (Waycott, 2004).

*Enhalus acoroides* dapat tumbuh di berbagai tipe sedimen mulai dari slit (tanah liat) sampai pasir-kasar dan lumpur sampai pecahan karang serta lumpur sampai lumpur-berpasir (Supriyadi, 2010).

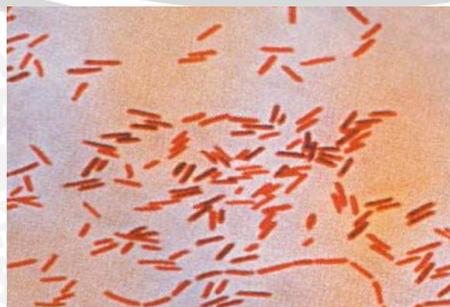
## 2.2 Karakteristik Bakteri Uji

*Multidrug 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 (Satari *et al.*, 2008). Dalam penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Prigganies (2009) telah diketahui bahwa bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* termasuk ke dalam bakteri MDR.

### 2.2.1 *Salmonella typhi*

*Salmonella* adalah penyebab utama dari penyakit yang disebarkan melalui makanan. *Salmonella* menyebabkan penyakit pada organ pencernaan. *Salmonella* adalah suatu genus bakteri enterobakteria gram-negatif berbentuk tongkat yang menyebabkan tifus, paratifus, dan penyakit foodborne (Mulyatno, 2011).

Spesies-spesies *Salmonella* dapat bergerak bebas dan menghasilkan hidrogen sulfida. Ikan laut yang terserang bakteri *Salmonella* biasanya berlendir, nafsu makan turun, terdapat bercak-bercak pada tubuhnya, biasanya berwarna merah. Apabila ikan yang tercemar *Salmonella* dikonsumsi akan mengakibatkan diare, keram perut, dan demam dalam waktu 8-72 jam setelah memakan makanan yang terkontaminasi oleh *Salmonella*. Gejala lainnya adalah demam, sakit kepala, mual dan muntah-muntah (Mulyatno, 2011). Bentuk bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Salmonella typhi* (Fardiaz, 1993)

Super kingdom : Bacteria

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

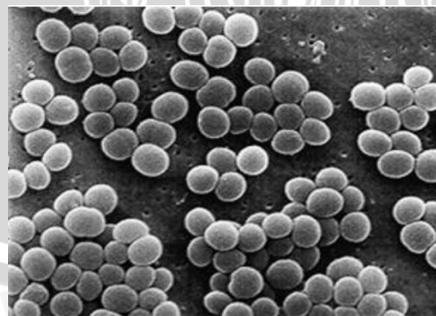
Family : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : *Salmonella typhi*

### 2.2.2 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang hanya memiliki satu dinding sel sehingga senyawa yang bersifat sebagai antibakteri akan lebih mudah untuk merusak dinding sel bakteri ini. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan beberapa macam kerugian yaitu menyebabkan makanan menjadi beracun, sindrom racun, infeksi kulit dan luka sehingga perlu diketahui senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ini (Kunkel, 1999 dalam Nurfadhillah 2013). Bentuk bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** *Staphylococcus aureus* (Fardiaz, 1993)

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

Kingdom : Eubacteria

Divisio : Firmicutes

Classis : Bacilli

Ordo: Bacillales

Familia : Staphylococcaceae

Genus: *Staphylococcus*

Species: *S. aureus*

### 2.3 Polaritas Pelarut

Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang diinginkannya, mempunyai titik didih yang rendah, murah, tidak toksik dan mudah terbakar (Harborne, 1987).

#### 2.3.1 Senyawa Polar

Senyawa polar adalah senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsurnya, hal ini terjadi karena unsur yang berikatan tersebut mempunyai nilai keelektronegatifitas yang berbeda atau senyawa yang dapat larut dalam air atau pelarut polar lain (Reskika, 2011). Salah satu contoh golongan senyawa polar adalah metanol. Metanol merupakan alkohol yang paling sederhana dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{OH}$ , berat molekul 32,04 g/mol dan titik didih  $64,5^\circ \text{C}$  ( $147^\circ \text{F}$ ). Zat ini bersifat ringan, mudah menguap dan Metanol sering digunakan dalam proses ekstraksi karena tingkat kepolarannya yang tinggi (Rezkika, 2011).

Menurut Ridawati *et al.* (2008) dalam Putri (2013) senyawa flavonoid merupakan senyawa polar, sehingga pelarut metanol yang merupakan pelarut bersifat polar dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa flavonoid. Berdasarkan konsep polarisasi, semakin polar suatu senyawa semakin mudah senyawa itu larut dalam pelarut yang polar juga.

### 2.3.2 Senyawa Semi Polar

Senyawa semipolar merupakan senyawa yang terbentuk apabila elektron yang digunakan bersama tidak berasal dari masing-masing atom yang berikatan melainkan dari hanya salah satu atom. Atom lain hanya menerima pasangan elektron yang digunakan bersama. Senyawa semipolar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Contoh pelarut ini adalah: aseton, etil asetat, kloroform.

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCCH}_3$ . Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar. Menurut Harbone (1987) etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel seperti aglikon flavonoid (Harborne, 1987). Etil asetat digunakan terutama sebagai pelarut dan pengencer, yang disukai karena biaya rendah dan toksisitas rendah.

### 2.3.3 Senyawa Non Polar

Senyawa non polar adalah senyawa yang terbentuk akibat adanya suatu ikatan antar elektron pada unsur-unsur yang membentuknya. Hal ini terjadi karena unsur yang berkaitan mempunyai nilai elektronegatifitas yang sama. Senyawa ini tidak dapat larut dalam air dan tidak memiliki pasangan elektron

bebas. Senyawa ini baik untuk mengekstrak berbagai jenis minyak. Contoh pelarut jenis ini adalah: N-heksana dan eter.

Heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -anaberasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air.

#### 2.4 Senyawa Aktif Pada Lamun

Bahan-bahan bioaktif atau berbagai macam bahan kimia yang terkandung dalam tubuh biota laut merupakan potensi yang sangat besar bagi penyediaan bahan baku industri farmasi, kosmetika, pangan, dan industri bioteknologi lainnya. Sejauh ini, pemanfaatan potensi bahan-bahan bioaktif untuk keperluan industri terutama bioteknologi masih rendah (Dahuri *et al.*, 1996 dalam Putri 2013). Pemanfaatan bahan-bahan bioaktif (natural product) dari biota laut praktis belum berkembang, padahal di negara-negara seperti Amerika Serikat, Jepang, dan Malaysia industri bioteknologi yang mengelola bahan-bahan bioaktif dari laut telah menjadi salah satu industri andalan (Azkab, 1999).

Senyawa bioaktif merupakan senyawa yang memiliki aktivitas biologis terhadap organisme lain atau pada organisme yang menghasilkan senyawa tersebut. Senyawa metabolit sekunder dari lamun dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Salah satunya yaitu melalui proses ekstraksi tunggal dengan menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda kepolarannya, seperti metanol (polar), etil asetat (semipolar) dan n-heksana (nonpolar). Perez-Jimenez *et al* (2006) dalam Putri (2013) menyatakan bahwa penggunaan jenis pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya diketahui dapat

memengaruhi transfer elektron tunggal dan transfer atom hidrogen yang merupakan kunci utama dalam pengukuran aktivitas antioksidan.

Beberapa peneliti telah melakukan pengujian senyawa-senyawa bioaktif dari lamun. Qi *et al.* (2008) dan Anwariyah (2011) menemukan kandungan senyawa aktif utama yang terdapat pada semua bagian lamun jenis *Enhalus acoroides* berupa senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan steroid yang bersifat sebagai antibakteri.

## 2.5 Analisis Senyawa Aktif Lamun *Enhalus acoroides*

### 2.5.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen zat aktif suatu bahan dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif (Kristanti *et al.*, 2008). Selanjutnya ada beberapa faktor yang mempengaruhi ekstraksi, yaitu lama ekstraksi, suhu, dan jenis pelarut yang digunakan.

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang digunakan pada temperatur ruangan, terlindung dari cahaya, cairan pelarut akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh larutan dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi tergantung pada sifat komponen yang akan diisolasi. Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan polaritas pelarut agar bahan dapat dilarutkan. Ada tiga jenis pelarut, yaitu pelarut polar, semi-polar, dan non-polar (Houghton dan Raman, 1998; dalam Danata, 2014). Menurut Rumiantin (2011) pelarut dengan polaritas yang tinggi lebih banyak dapat melarutkan senyawa organik yang ada pada sampel. Metanol merupakan pelarut yang mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak. Beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut, yaitu titik didih, sifat korosif, sifat toksik dan daya melarutkannya (Khopkar, 2002 dalam Dewi, 2012).

### 2.5.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui jenis senyawa organik yang dihasilkan oleh organisme sebagai bentuk metabolit sekunder. Tujuan dan manfaat dari melakukan uji fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak kasar bila diuji dengan sistem biologi (Harborne, 1987). Referensi senyawa yang dapat ditarik oleh ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut berbeda tersaji dalam Tabel 1.

Lanjutan refererensi senyawa yang dapat ditarik oleh ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut berbeda (Tabel 1).

**Tabel 1.** Referensi senyawa yang dapat ditarik oleh ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut berbeda

No	Spesies Lamun	Jenis Pelarut	Senyawa	Referensi
1	<i>Enhalus acoroides</i>	Metanol	Alkaloid, flavonoid, benedict, ninhidrin	Dewi (2013)
2	<i>Ehalus acoroides</i>	Etil asetat	Fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida	Harbone (1987)
3	<i>Enhalus acoroides</i>	N-heksana	Flavonoid, fenol, steroid dan triterpenoid	Rumiantin (2011)

### 2.5.2.1 Alkaloid

Senyawa alkaloid adalah senyawa kimia tanaman hasil metabolit sekunder yang terbentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran. Darwis (2001) dalam Nurfadhilah (2013), menyatakan bahwa alkaloid adalah golongan senyawa basa bernitrogen yang kebanyakan heterosiklik yang banyak terdapat pada tumbuhan, termasuk lamun.

Hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin dan stiknin adalah alkaloid yang terkenal dan mempunyai efek fisiologis dan psikologis (Lenny 2006 dalam Anwariyah 2011).

### 2.5.2.2 Flavonoid

Menurut strukturnya, semua flavonoid merupakan turunan senyawa induk flavon yang terdapat pada tumbuhan. Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol

70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid ini berupa senyawa fenol, oleh karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak (Harborne 1987).

Flavonoid memiliki banyak kegunaan baik bagi tumbuhan maupun manusia. Flavonoid digunakan tumbuhan sebagai penarik serangga dan binatang lain untuk membantu proses penyerbukan dan penyebaran biji. Sedangkan bagi manusia, dalam dosis kecil flavon bekerja sebagai stimulant pada jantung, dan flavon yang terhidroksilasi bekerja sebagai diuretic dan sebagai antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

### 2.5.2.3 Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Pembentukan busa yang baik sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau sewaktu memekatkan 45 ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan adanya saponin. Saponin jauh lebih polar dari pada sapogenin karena ikatan glikosidanya (Harborne 1987).

Sebagian besar saponin bereaksi netral (larut dalam air), beberapa ada yang bereaksi asam (sukar larut dalam air), dan sebagian kecil ada yang bereaksi basa. Saponin dapat membentuk senyawa kompleks dengan kolesterol. Saponin bersifat toksik terhadap ikan dan binatang berdarah dingin lainnya. Hal inilah yang menyebabkan saponin banyak dimanfaatkan sebagai racun ikan. Saponin yang beracun disebut sapatoksin (Sirait, 2007).

### 2.5.2.4 Tanin

Senyawa tanin merupakan komponen zat organik derivat polimer glikosida yang terdapat dalam bermacam-macam tumbuhan, terutama tumbuhan

berkeping dua (dikotil). Ekstrak tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol yang sangat kompleks (Linggawati et al., 2002 *dalam* Nurfadhillah, 2013).

Senyawa ini memiliki sifat antara lain dapat larut dalam air atau alkohol karena tanin banyak mengandung fenol yang memiliki gugus OH, dapat mengikat logam berat, serta adanya zat yang bersifat antirayap dan jamur. Tanin yang terdapat pada kulit kayu dan kayu dapat berfungsi sebagai penghambat kerusakan akibat serangga dan jamur, karena memiliki sifat antiseptik (Shut 2002 *dalam* Putri 2013).

#### **2.5.2.5 Triterpenoid**

Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal, seringkali bertitik leleh tinggi dan pada umumnya sukar dicirikan karena tidak ada kereaktifan kimianya. Triterpenoid digolongkan menjadi empat golongan, yaitu triterpena, steroid, saponin dan glikosida jantung (Harbone, 1987).

Triterpenoid memiliki beberapa nilai kegunaan bagi manusia, antara lain minyak atsiri sebagai dasar wewangian, rempah-rempah serta sebagai cita rasa dalam industri makanan. Fungsi triterpenoid bagi tumbuhan adalah sebagai pengatur pertumbuhan (seskuitertenoid abisin dan giberelin), karotenoid sebagai pewarna dan memiliki peran membantu fotosintesis (Harbone, 1987).

#### **2.5.3 Uji Aktivitas Antibakteri**

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan 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 sintesis 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 dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi agar. Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi dari suatu senyawa yang dapat memberikan efek pada mikroorganisme. Indikator adanya respon penghambatan bakteri oleh suatu senyawa bioaktif ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling cakram (*paper disk*). Menurut penelitian Hermawan *et al.*, (2007) syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu  $10^5$ - $10^8$  CFU/mL.

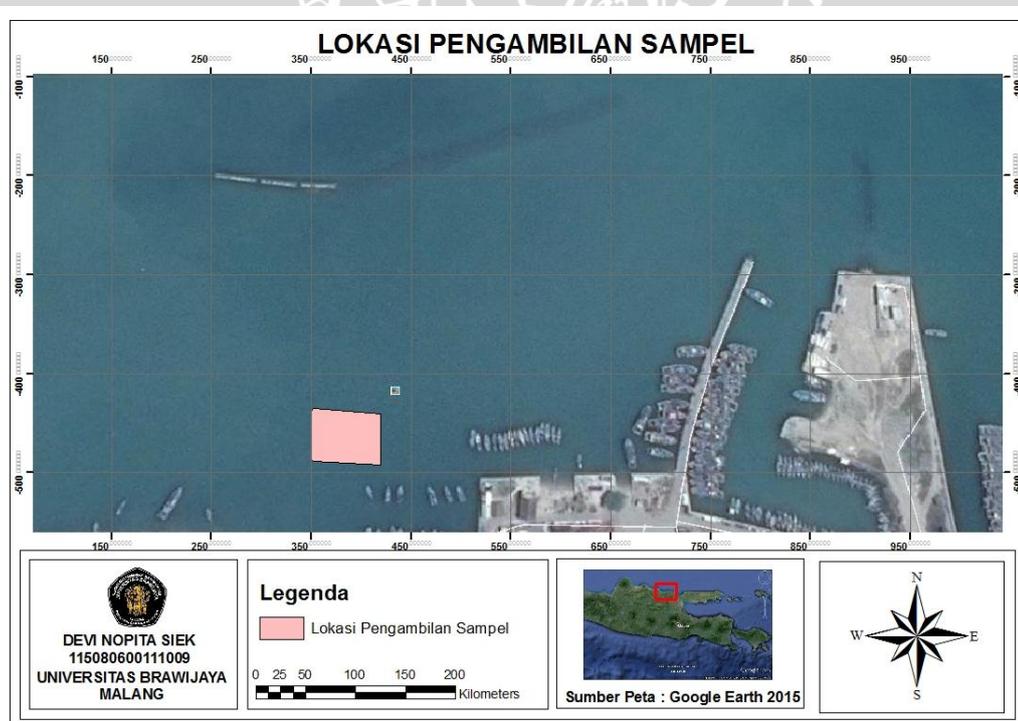


### 3. METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Eksperimental Laboratory* yang dilakukan secara *in vitro* menggunakan uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tiga kali ulangan pada setiap perlakuan.

#### 3.1 Waktu dan Tempat

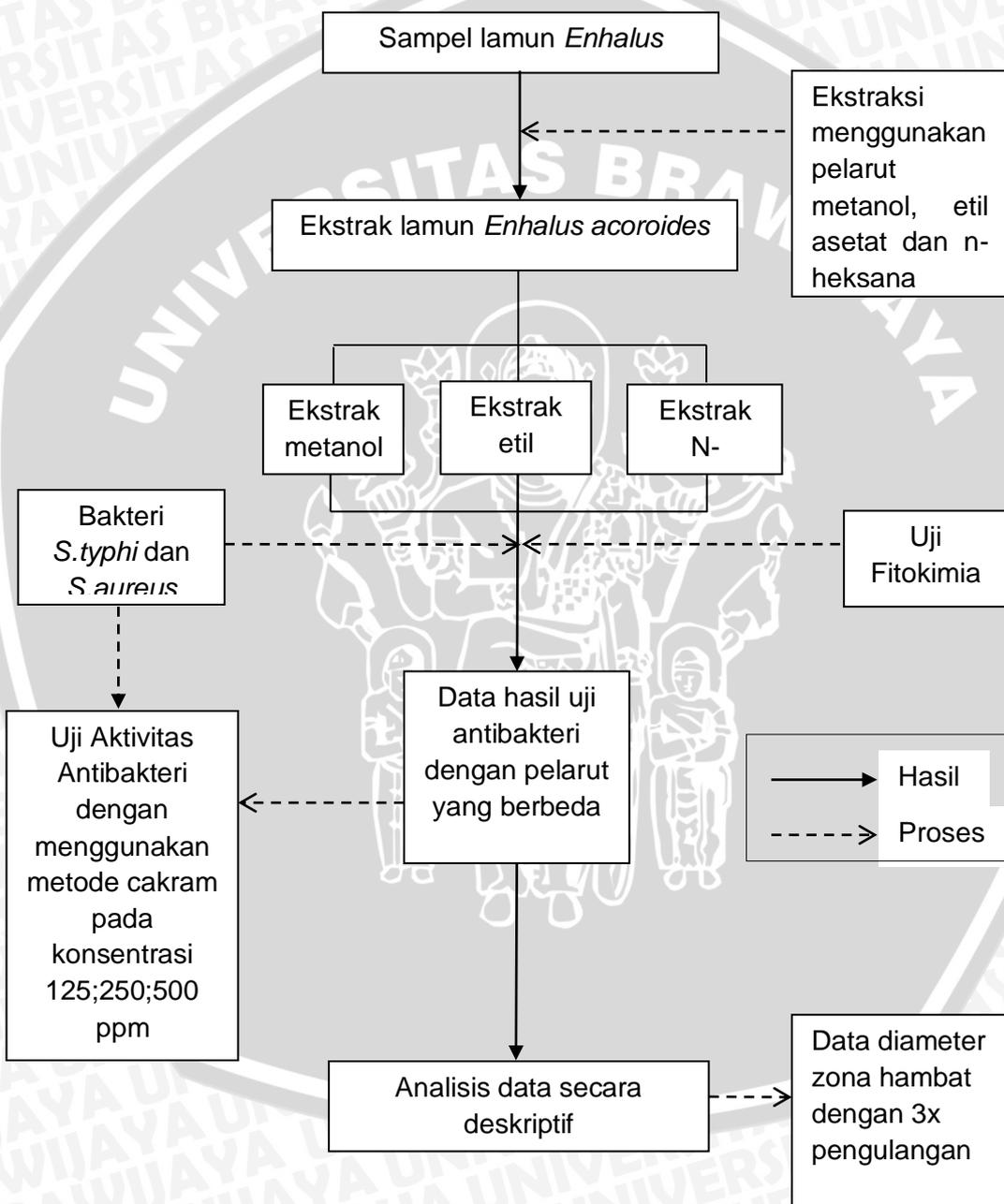
Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Mei 2015. Pengambilan sampel lamun *Enhalus acoroides* dilakukan di Pantai Paciran, Kabupaten Lamongan, Jawa Timur (Gambar 4). Ekstraksi lamun dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Kultur Jaringan dan Mikroteknik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Sains dan Ilmu Hayati (LSIH), Universitas Brawijaya, Malang.



Gambar 4. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

### 3.2 Prosedur Penelitian

Prosedur yang dilakukan dalam pelaksanaan penelitian ini, terdiri dari beberapa tahapan dimulai dari proses pengambilan sampel di lapang, kemudian dilanjutkan dengan pengujian di laboratorium. Diagram alir prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 5 berikut ini:



Gambar 5. Prosedur Penelitian

### 3.3 Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini alat-alat yang digunakan dijelaskan pada Tabel 2 berikut.

**Tabel 2.** Alat, Spesifikasi dan Fungsinya

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1.	Gunting	Gundo	Memotong sampel Lamun <i>Enhalus acoroides</i> saat di dalam air.
2.	Nampan	-	Wadah alat dan bahan.
3.	Crushtable Tank	-	Mengambil alat/benda panas.
4.	Gelas Ukur	Pyrex Iwaki 250ml	Mengukur volume larutan.
5.	Pipet Tetes	-	Mengambil larutan dalam skala kecil.
6.	Jarum Ose	Steinless	Mengambil media dari padat ke padat.
7.	Bunsen	-	Sumber panas.
8.	Cawan Petri	Pyrex Iwaki	Tempat menumbuhkan dan membiakkan mikroba.
9.	Washing Bottle	-	Wadah aquades.
10.	Tabung Reaksi	Iwaki Pyrex 10ml	Wadah larutan pengencer/sample
11.	Rak Tabung Reaksi	Lab-Aid	Tempat tabung reaksi.
12.	Spatula	-	Menghomogenkan larutan.
13.	Erlenmeyer	Iwaki Pyrex 1000 ml	Tempat pembuatan media NA.
14.	Botol Vial	-	Tempat sampel ekstrak lamun.
15.	Jangka Sorong	-	Mengukur diameter zona hambat.
16.	Sendok Bahan	-	Membantu mengambil ekstrak lamun.
17.	Pinset	-	Mengambil kertas cakram.
18.	Kompore	Maspion S-302	Sumber panas dalam skala besar.
19.	Panci	-	Destruksi.
20.	Autoklaf	Tomy ES-315	Alat sterilisasi basah.
21.	Kulkas	Toshiba GR-R66ED	Menyimpan sampel dan media isolasi.
22.	Incubator	MMM Med-Center	Menginkubasi media padat.
23.	Vortex Mixer	Maxi Mix II Type-37600	Menghomogenkan larutan pengencer pada tabung reaksi.
24.	Timbangan Digital	Mettler Toledo AB204-S	Menimbang sample lamun.
25.	Oven		Sterilisasi kering.
26.	LAF	NUAIRE	Mengontrol aktivitas mikroba.
27.	Blender	Miyako	Menghaluskan sample lamun.
28.	Pisau	-	Memotong sampel lamun saat masih utuh.

Dalam penelitian ini alat-alat yang digunakan dijelaskan pada Tabel 3 berikut.

**Tabel 3.** Bahan, Spesifikasi dan Fungsinya

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1.	Aquades	80 ml	Sebagai pelarut.
2.	Tali	Angsa	Mengikat alat.
3.	NA	NA Merk 1,84 gr	Sebagai media pertumbuhan bakteri.
4.	Alkohol	70%	Pengondisian aseptis.
5.	Koran	-	Strerilisasi
6.	Kertas Label	Kojico	Penanda.
7.	Tissue	Royal	Mengeringkan alat-alat yang basah.
8.	Kapas	One Med	Menjaga agar tidak terkontaminasi.
9.	Aluminium Foil	Kinpak	Pembungkus alat.
10.	Ekstrak Lamun <i>Enhalus acoroides</i>	34,46 gr	Sample yang akan diuji.
11.	Kloramfenikol	0,2 gr	Kontrol positif
12.	Metanol	Pro Analys	Sebagai pelarut (polar)
13.	N-Heksan	Pro Analys	Sebagai pelarut (non polar)
14.	Etil asetat	Pro Analys	Sebagai pelarut (semi polar)
15.	Kertas Cakram	Oxoid	Uji daya hambat.
16.	Kertas Saring	Pori-pori 12,5 mm	Menyaring larutan.
17.	NaFis	NaCl 0,9% 35ml	Larutan pengenceran
18.	<i>Salmonella typhi</i>		Bakteri Uji
19.	<i>Staphylococcus aureus</i>		Bakteri Uji

### 3.3.1 Pengambilan Sampel dan Data Parameter Lingkungan

Pengambilan sampel dilakukan menggunakan peralatan selam dasar. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah metode Purposif Sampling yaitu teknik pengambilan yang digunakan apabila sampel yang akan diambil mempunyai pertimbangan tertentu seperti kondisi perairan dan kelimpahan lamun. Lamun diambil pada lokasi berdekatan dengan kedalaman yang sama pada saat pasang dalam kondisi hidup, sehat dan memiliki ukuran yang relatif sama. Lamun lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik ketika masih di dalam

perairan sehingga tidak terjadi kontak dengan udara (Fajarullah *et al.*, 2013). Sampel kemudian dimasukkan di dalam CoolBox untuk dibawa ke Laboratorium Sains Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya. Data parameter lingkungan yang diambil yaitu salinitas, suhu perairan, DO, dan pH.

### 3.3.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan untuk mencegah kontaminasi saat penelitian dilakukan. Sterilisasi dilakukan dengan metode sterilisasi basah yaitu menggunakan autoklaf digital pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm atau 0,15 Mpa. Jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung hingga memijar.

### 3.3.3 Ekstraksi Lamun *Enhalus acoroides*

Ekstraksi menggunakan beragam pelarut yaitu metanol, n-heksan dan etil asetat. Pelarut metanol, n-heksan dan etil asetat yang digunakan ialah larutan pro-analys. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan perbandingan berat sampel dan volume pelarut 1:8 selama 2x24 jam (Anwariyah, 2011). Larutan ekstrak yang didapat selanjutnya di saring menggunakan kertas penyaring Whatman No.1. Filtrat lalu di evaporasi dan dikeringkan pada suhu 55°C - 60°C (El Hady *et al.*, 2007). Menurut Dewi (2012) proses evaporasi dengan suhu yang ditentukan dilakukan untuk memperoleh ekstrak dengan bentuk pasta, selain itu titik didih dari setiap pelarut juga menjadi faktor yang mempengaruhi suhu pada saat evapoasi. Jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan dapat dihitung dengan rumus :

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

### 3.3.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak lamun *Enhalus acoroides*. Pengamatan dilakukan secara visual oleh 3 orang. Adapun langkah-langkan uji fitokimia menggunakan metode Harborne (1997) sebagai berikut:

#### 1. Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 0,05 gr 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

Sampel sebanyak 0,05 gr ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,05 mg, setelah itu ditambahkan 0,2 ml amil alkohol dan 4 ml alkohol. Hasil uji positif bila larutan berwarna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.

#### 3. Uji Saponin

Sampel sebanyak 0.05 gr dimasukkan 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

Sampel sebanyak 0,05 gr diseduh 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 Triterpenoid

Sampel sebanyak 0,05 gr ditambahkan 10ml kloroform dan asam sulfur ditambahkan dengan volume yang sama. Jika terbentuk endapan merah maka positif mengandung triterpenoid.

### 3.3.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek pada mikroorganisme. Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode cakram dengan *paper disk* secara *in vitro*. Langkah yang dilakukan meliputi persiapan bakteri uji melalui pembuatan media, peremajaan bakteri dan kultur bakteri, dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri.

#### 3.3.5.1 Pembuatan Media

Media NA (*Natrium Agar*) merupakan media isolasi yang kaya dan subur. Pembuatan media NA pada penelitian ini dibuat dalam 2 bentuk, yaitu medium cawan petri yang akan digunakan untuk uji daya hambat dan medium agar miring yang akan digunakan untuk kultur bakteri. Adapun langkah-langkah yang dilakukan saat pembuatan media yaitu :

1. Menimbang NA sesuai yang dibutuhkan menggunakan timbangan digital.
2. Memasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan ditambahkan aquades
3. Merebus agar partikel homogen
4. Media NA yang sudah homogen disterilisasi menggunakan autoklaf
5. Menuang NA yang akan digunakan untuk uji antibakteri pada cawan petri dan tabung reaksi untuk kultur bakteri dan menunggu hingga membentuk gel.

### 3.3.5.2 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri bertujuan untuk membiakkan bakteri agar jumlah stok bakteri cukup untuk penelitian. Isolat bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* yang dikoleksi dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya kemudian diperbanyak dengan metode agar miring menggunakan media NA. Adapun langkah-langkah yang dilakukan saat peremajaan bakteri yaitu :

1. Isolat bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* digoreskan pada permukaan media agar miring menggunakan jarum ose.
2. Menutup mulut tabung reaksi dengan kapas.
3. Membungkus dengan *aluminium foil* dan diikat dengan tali lalu dimasukkan ke dalam inkubator.
4. Menunggu hingga 24 jam lalu dipindahkan ke dalam kulkas.

### 3.3.5.3 Pembuatan Larutan Suspensi Bakteri Uji

Larutan suspensi berfungsi untuk menyesuaikan konsentrasi bakteri yang akan ditanam untuk diuji daya hambat terhadap ekstrak lamun *Enhalus acoroides* sesuai dengan larutan standard Mc Farland dengan konsentrasi  $10^5$  CFU/ml. Larutan ini digunakan sebagai pembanding dalam menentukan kekeruhan yang mana estimasi jumlah bakteri adalah  $1,5 \times 10^5$  Colony Forming Unit per ml atau disingkat CFU/ml (Paramita dan Wahyudi, 2011). Komposisi larutan Mc Farland yaitu  $H_2SO_4$  0,36 N sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$  1,175% sebanyak 0,5 ml dalam *erlenmeyer*, kemudian dihomogenkan sampai terbentuk kekeruhan tertentu (Victor, 1980). Adapun langkah-langkah dalam pembuatan larutan suspensi bakteri uji yaitu :

1. Mengambil koloni bakteri *S.aureus* dan *S.typhi* menggunakan jarum ose.
2. Memasukkan dalam larutan kultur.

3. Menghomogenkan dengan vortex mixer.
4. Menyamakan kekeruhan dengan larutan McFarland 10<sup>5</sup>.

### 3.3.5.4 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram adalah salah satu teknik pewarnaan diferensial yang digunakan untuk mencirikan bakteri ke dalam dua kelompok besar, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Pelczar dan Chan, 1986). Hasil pewarnaan Gram dapat digunakan untuk memastikan bahwa isolat bakteri yang dikoleksi dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Adapun langkah-langkah dalam pewarnaan gram yaitu :

1. Menyiapkan isolat murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.
2. Memijarkan jarum ose diatas Bunsen.
3. Menginokulasi isolate murni pada *obyek glass* kemudian memfiksasi diatas bunsen.
4. Meneteskan kristal ungu 1-2 tetes dan menunggu selama 1 menit kemudian dibilas dengan aquades.
5. Meneteskan iodium 1-2 tetes dan menunggu selama 2 menit kemudian dibilas dengan aquades.
6. Membilas dengan alkohol 70% kemudian dibilas aquades.
7. Meneteskan safranin dan menunggu selama 30 detik kemudian dibilas aquades.
8. Menutup *obyek glass* dengan *cover glass* yang selanjutnya mengamati dengan mikroskop.

### 3.3.5.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Konsentrasi larutan ekstrak lamun *Enhalus acoroides* yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri sangat mempengaruhi besarnya daya hambat.. Pada penelitian ini digunakan 3 konsentrasi dari ekstrak lamun *Enhalus acoroides* yaitu, 125 ppm, 250 ppm dan 500 ppm. Ketiga konsentrasi tersebut didapat dengan melarutkan ekstrak lamun dengan menggunakan DMSO 10%. Menurut Alfath *et al.*, (2013) DMSO merupakan bahan alami dari serat kayu dan tidak berbahaya. Larutan DMSO berfungsi sebagai pelarut yang cepat meresap ke dalam ekstrak tanpa merusak sel-selnya dan juga sering digunakan dalam bidang kedokteran dan kesehatan.

1. Menyiapkan media agar NA.
2. Menginokulasi bakteri dengan cara digoreskan pada media dengan menggunakan *cotton swab*.
3. Menginokulasi secara diagonal.
4. Meletakkan kertas cakram yang telah direndam dengan larutan ekstrak selama 15 menit pada media.
5. Sebagai kontrol positif digunakan kloramfenikol dan pelarut metanol, etil asetat serta n-heksana sebagai kontrol negatif.
6. Menginkubasi sampel pada inkubator dengan suhu 37° C.
7. Mengamati aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan zona bening disekeliling kertas cakram dan mengukur besar zona hambatnya dengan menggunakan jangka sorong.
8. Pengamatan dan pengukuran zona hambat dilakukan pada waktu 24 jam dan 48 jam.

Menurut Oktavianus (2013), jika nilai zona bening yang dihasilkan mendekati atau melebihi nilai zona bening dari kontrol positif maka ekstrak

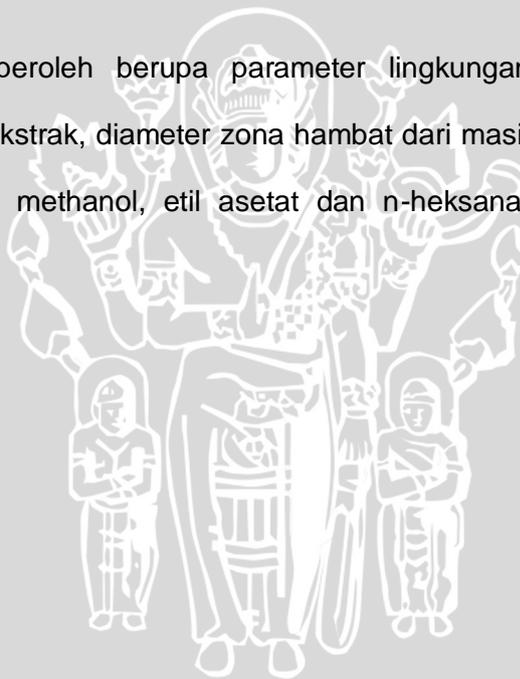
berpotensi sebagai antibakteri. Adapun Tabel 4 menunjukkan referensi uji daya hambat ekstrak lamun *Enhalus acoroides* pada beberapa bakteri.

**Tabel 4.** Referensi uji daya hambat ekstrak lamun *Enhalus acoroides* pada beberapa bakteri

No	Spesies Lamun	Jenis Pelarut	Bakteri	Zona Bening	Referensi
1	<i>Enhalus acoroides</i>	Etil Asetat	<i>S. aureus</i>	8,55 mm	Ismail <i>et al.</i> , (2012)
2	<i>Ehalus acoroides</i>	Metanol	<i>S.aureus</i>	9,05 mm	Nurfadhilah (2013)
3	<i>Enhalus acoroides</i>	N-heksana	<i>Vibrio</i>	5,00 mm	Dewi (2013)

#### 3.4.6 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa parameter lingkungan, senyawa yang terkandung di dalam ekstrak, diameter zona hambat dari masing-masing ekstrak kasar dengan pelarut methanol, etil asetat dan n-heksana dianalisis secara deskriptif.



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Rendemen Ekstrak Lamun *Enhalus acoroides*

Ekstraksi dengan kepolaran berbeda biasanya menggunakan sampel yang telah dikeringkan (Colegate dan Molyneux, 2008). Pengeringan merupakan metode pengawetan yang penting untuk bahan baku tumbuhan karena dapat menghambat degradasi enzimatik dan limit pertumbuhan mikroba saat ekstraksi (Harbourne *et al.*, 2009). Beberapa penelitian pada tumbuhan mengenai aktivitas antioksidan dan kandungan fenol juga banyak menggunakan sampel kering misalnya pada daun gambir (Susanti, 2008). Menurut Gupta *et al.* (2011), proses pengeringan dapat menurunkan aktivitas air yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pengeringan juga dapat mengurangi volume penyimpanan dan mengurangi reaksi-reaksi yang dapat merusak bahan seperti hidrolisis dan oksidasi lemak (Winarno 2008).

Ekstraksi daun lamun *Enhalus acoroides* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan perbandingan 1 : 8 dengan pelarut berbeda yaitu metanol (pelarut polar), etil asetat (pelarut semi polar) dan n-heksana (pelarut non-polar) dan direndam selama 48 jam. Ekstrak berupa pasta dengan warna hijau tua seperti pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil ekstraksi lamun *Enhalus acoroides*

Data hasil ekstraksi dan rendemen ekstrak daun lamun *Enhalus acoroides* disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Data hasil ekstraksi dan rendemen

Pelarut	Berat		Vol. Pelarut	Waktu	Ekstrak	Rendemen
	Segar	Kering				
Metanol	1000gr	50 gr	400 ml	48 jam	3,12 gr	6,24 %
Etil asetat	1000gr	50 gr	400 ml	48 jam	0,38 gr	0,76 %
N-heksan	1000gr	50 gr	400 ml	48 jam	0,25 gr	0,50 %

Setelah lamun diekstraksi, didapatkan hasil rendemen ekstrak dengan pelarut Metanol sebesar 6,24 %; pelarut Etil asetat sebesar 0,76 %; pelarut N-heksana sebesar 0,50 %. Pada penelitian Anwariyah (2011) terhadap lamun *Cymodocea rotundata* yang menggunakan perbandingan pelarut 1:8 dan pelarut yang berbeda kepolarannya didapatkan hasil rendemen terbesar dari ekstrak metanol, yaitu 9,76% diikuti oleh rendemen ekstrak etil asetat dan n-heksana dengan nilai berturut-turut adalah 0,57% dan 0,16%. Perbedaan jumlah rendemen diduga karena perbedaan jenis lamun sehingga mempengaruhi kandungan senyawa aktif yang dapat diekstrak oleh masing-masing pelarut dan juga dipengaruhi oleh ukuran bubuk lamun. Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot sampel awal yang diekstrak.

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. Selain metanol, air juga merupakan pelarut polar. Namun meskipun air dapat dijadikan sebagai pelarut tetapi aktivitas antimikroba yang

lebih tinggi ditunjukkan pada pelarut organik dibandingkan dengan ekstrak air. Flavonoid yang larut dalam air tidak memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan namun hanya sebagai antioksidan (Tiwari, 2011).

Pada penelitian didapatkan hasil rendemen dengan pelarut metanol lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etil asetat maupun n-heksana. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam lamun *Enhalus acoroides* cenderung lebih banyak bersifat polar. Fajarullah (2013) menyatakan bahwa rendemen ekstrak hasil maserasi dengan pelarut yang berbeda akan menghasilkan rendemen yang berbeda pula dan nilai rendemen tertinggi yang dihasilkan dari ekstrak metanol. Hal ini diduga dipengaruhi oleh sifat larutan tersebut yang mampu melarutkan hampir semua kandungan bioaktif lamun.

#### 4.2 Senyawa Bioaktif Pada Lamun

Produksi senyawa metabolit sekunder organisme merupakan salah satu mekanisme pertahanan diri yang meningkat produksinya seiring dengan tekanan lingkungan yang terjadi di sekitarnya. Pengaruh dari kondisi lingkungan sangat berperan dalam mempengaruhi proses biosintesis metabolit primer maupun metabolit sekundernya. Kawasan pantai Paciran memiliki kadar salinitas masih berada dari nilai ambang batas baku mutu KEPMEN LH 2004 yaitu sebesar 30 ppm. Suhu perairan Pantai Paciran yaitu 31.6°C, kondisi ini memperlihatkan bahwa suhu perairan di Pantai Paciran melebihi batas baku mutu yang telah ditetapkan. Data parameter kualitas lingkungan pada pantai Paciran Lamongan disajikan pada Tabel 6.

Lanjutan data parameter kualitas lingkungan pada pantai Paciran Lamongan (Tabel 6).

**Tabel 6.** Data parameter kualitas lingkungan Pantai Paciran

Stasiun	DO	Salinitas	Suhu	pH
Paciran	5,4 mg/L	30 ‰	31.6 °C	7,4
Baku Mutu (KEPMEN 2004)	LH >3	33-34	28- 30	7 – 8,5

Kondisi lingkungan yang terdiri dari faktor biotik dan abiotik mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam lamun. Metabolit sekunder ini berupa senyawa-senyawa bioaktif yang dikenal dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sudha dan Ravishankar (2002) dalam Setiawan (2014) melaporkan bahwa faktor biotik dan abiotik meningkatkan hasil metabolit sekunder yang mana digunakan dalam interaksi dengan lingkungan. Faktor abiotik terutama salinitas sangat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan. Pessaraki (1993) dalam Setiawan (2014) menyatakan bahwa cekaman salinitas menyebabkan jumlah air pada tanaman semakin berkurang. Keadaan air yang buruk diduga dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder pada daun dan akar lamun.

#### 4.3 Komponen Senyawa Fitokimia

Komponen bioaktif dalam lamun *Enhalus acoroides* dapat diketahui dengan melakukan uji fitokimia. Analisis fitokimia adalah analisis yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimia, biosintesis, metabolisme, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologisnya. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan sifat senyawa aktif dari tumbuhan yang dapat bersifat racun atau memberikan efek

bermanfaat, yang ditunjukkan dengan uji melalui ekstrak kasar (Herbone, 1987). Analisis fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triptenoid. Kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dapat dilihat dalam Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Uji Fitokimia *Enhalus acoroides*

Komponen Bioaktif	Kandungan Senyawa			Keterangan
	Metanol	Etil asetat	N-heksana	
Alkaloid	+	+	+	Terdapat endapan putih dalam pereaksi Meyer
Flavonoid	+	+	+	Terbentuk lapisan berwarna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol
Saponin	+	-	-	Terbentuk busa yang stabil
Tanin	+	-	-	Terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman
Triterpenoid	-	+	+	Terbentuk warna merah

Keterangan : (+) Reaksi Positif (-) Reaksi Negatif

Berdasarkan hasil analisis fitokimia diketahui bahwa pada ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, dengan pelarut Etil asetat mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan triterpenoid, sedangkan dengan pelarut N-heksana mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan triterpenoid. Secara umum, komponen senyawa fitokimia yang terdapat pada lamun *Enhalus acoroides* paling banyak terdapat pada ekstrak dengan pelarut metanol. Pada pelarut etil asetat dan n-heksana diidentifikasi tidak adanya kandungan tanin dan saponin, sedangkan pada pelarut methanol ditemukan. Hal serupa ditunjukkan pada penelitian Rumiantin (2011), selanjutnya dijelaskan juga bahwa pada pelarut methanol tidak diidentifikasi adanya senyawa triterpenoid. Hal ini

mengindikasikan bahwa senyawa fitokimia dalam lamun *Enhalus acoroides* cenderung larut dalam pelarut polar.

Perbedaan komposisi senyawa kimia yang terkandung dalam spesies yang sama dapat terjadi. Perbedaan polaritas pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kandungan senyawa fitokimia pada masing-masing ekstrak. Hal ini sesuai dengan perbandingan penelitian kandungan fitokimia lamun *Enhalus acoroides* yang dapat dilihat pada Tabel 8.

**Table 8.** Kandungan Senyawa Literatur

Spesies Lamun	Kandungan Senyawa
<i>Enhalus acoroides</i>	Flavonoid, fenol hidrokuonin, steroid, tannin dan saponin (Rumiantin, 2011)
<i>Enhalus acoroides</i>	Alkaloid, flavonoid, benedict dan nihidrin (Dewi, 2013)

#### 4.3.1 Alkaloid

Ekstrak kasar lamun *Enhalus acoroides* pada pelarut metanol, etil asetat dan n-heksana terdeteksi adanya senyawa alkaloid (Gambar 7). Alkaloid memiliki fungsi dalam bidang farmakologis antara lain sebagai analgetik (menghilangkan rasa sakit), mengubah kerja jantung, mempengaruhi peredaran darah dan pernafasan, antimalaria, stimulan uterus dan anaestetika lokal (Sirait, 2007). Sumber senyawa alkaloid potensial adalah tumbuhan yang tergolong dalam kelompok angiospermae. Alkaloid jarang atau bahkan tidak ditemukan pada tumbuhan yang tergolong dalam kelompok gimnospermae misalnya paku-pakuan, lumut dan tumbuhan tingkat rendah lain (Harbone, 1987). Ulfa *et al.*, (2014) dalam penelitiannya menemukan adanya senyawa alkaloid pada lamun dugong (*Thalassia hemprichii*) dengan pelarut aseton dan metanol.



Gambar 7. Hasil Uji Fitokimia Alkaloid

#### 4.3.2 Flavonoid

Ekstrak lamun *Enhalus acoroides* positif mengandung senyawa flavonoid dengan semua pelarut yaitu metanol, etil asetat dan n-heksana (Gambar 8). Senyawa ini yang diduga berperan sebagai antioksidan dan antibakteri pada lamun *Enhalus acoroides*. Sekitar 5-10% metabolit sekunder tumbuhan adalah flavonoid dengan struktur kimia dan peran biologi yang sangat beragam (Setyawan dan Darusman, 2008). Jika suatu tumbuhan memiliki konsentrasi senyawa flavonoid yang tinggi maka aktivitas antioksidan dalam bahan tersebut juga tinggi. Hasil penelitian Rumiantin (2011) terhadap lamun *Enhalus acoroides* dari kawasan Pulau Pramuka, Taman Nasional Kepulauan Seribu juga menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada ketiga jenis pelarut.



Gambar 8. Hasil Uji Fitokimia Flavonoid

#### 4.3.3 Saponin

Saponin adalah adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Sifatnya sebagai senyawa aktif permukaan disebabkan adanya kombinasi antara aglikon lipofilik dengan gula yang bersifat hidrofilik. Saponin jauh lebih polar daripada saponin karena ikatan glikosidanya (Harbone, 1987). Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa saponin terdeteksi pada ekstrak metanol (Gambar 9). Fajarullah *et al.*, (2013) dalam penelitiannya menemukan adanya kandungan saponin pada lamun *Thalassodendron ciliatum* dengan pelarut metanol (polar) dan kloroform (semi polar).



**Gambar 9.** Hasil Uji Fitokimia Saponin

#### 4.3.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat membentuk polifenol yang membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dengan protein. Senyawa ini terdapat pada berbagai jenis tanaman yang digunakan baik untuk bahan pangan maupun ternak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terdeteksi adanya tanin pada pelarut metanol (Gambar 10). Hal ini sesuai dengan pernyataan Tiwari *et al.*, (2011) bahwa pelarut metanol

dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa tanin. Tanin digunakan dalam industri sebagai zat warna dalam produksi tinta dan pewarna tekstil. Dalam industri makanan tanin digunakan untuk menjernihkan anggur, bir dan jus buah (Saxena et al, 2013).



**Gambar 10.** Hasil Uji Fitokimia Tanin

#### 4.3.5 Triterpenoid

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa komponen triterpenoid terdeteksi ekstrak etil asetat (semipolar) dan ekstrak n-heksana (non polar), sedangkan pada ekstrak metanol komponen bioaktif triterpenoid tidak terdeteksi (Gambar 11). Komponen dari pembentukan triterpenoid adalah kolesterol yang bersifat non polar (Harbone, 1987), sehingga diduga triterpenoid dapat larut pada pelarut organik (non polar). Hal ini menekankan bahwa sangat wajar apabila triterpenoid terdeteksi pada lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut semi polar etil asetat dan non polar seperti n-heksana.

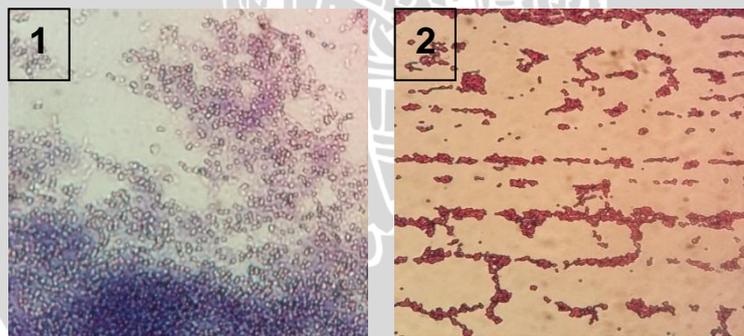


**Gambar 11.** Hasil Uji Fitokimia Triterpenoid

#### 4.4 Pewarnaan Gram

Bakteri secara umum dibedakan menjadi dua bagian berdasarkan sifat pewarnaan Gram yaitu Gram positif dan Gram negatif. Pada pewarnaan Gram, hasil yang didapat akan ditentukan dari komposisi dinding sel pada bakteri. Pada pewarnaan Gram ini, reagen yang digunakan ada 4 jenis, yaitu kristal ungu, iodin, alkohol dan safranin.

Hasil dari pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat (*coccus*) dan merupakan bakteri Gram positif, Hal tersebut terlihat dari warna ungu yang muncul ketika diamati pada mikroskop. Lisdayanti (2013) menjelaskan bahwa *Staphylococcus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk menggerombol yang tidak teratur. Selanjutnya hasil dari pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri *Salmonella typhi* berbentuk batang dan merupakan bakteri Gram negatif, hal tersebut terlihat dari warna merah yang muncul ketika diamati pada mikroskop. Hasil pewarnaan tersaji pada Gambar 12.



**Gambar 12.** Hasil Pewarnaan Gram Bakteri. (1) Bakteri *S.aureus* (2) Bakteri *S.typhi*

Bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari Kristal ungu sehingga ketika diamati dengan mikroskop akan menunjukkan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna ungu dari kristal tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan memperlihatkan warna merah.

#### 4.5 Aktivitas Antibakteri Lamun *Enhalus acoroides*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro*, dengan mengamati aktivitas hambat ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut polar, semi polar dan non polar. Hasil ekstrak kasar lamun *Enhalus acoroides* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Hal tersebut ditandai dengan adanya zona bening sebagai indikator adanya daerah hambatan. Senyawa yang berdifusi ke dalam agar dari kertas cakram mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Larutan uji akan berdifusi dari kertas cakram ke permukaan media agar padat yang telah diinokulasi bakteri. Hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya, yaitu ketebalan medium agar, waktu, kerapatan inoculum bakteri, komposisi media agar dan suhu pada saat inkubasi (Rostinawati, 2009).

Mekanisme penghambatan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis dinding sel, pengubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan melalui dinding sel, denaturasi protein sel dan perusakan system metabolisme di dalam sel dengan cara penghambatan kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Reid, 1972 dalam Oktavianus 2013).

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* (dikurangi diameter kertas cakram sebesar 5 mm) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* menunjukkan hasil rata-rata pada pelarut metanol dengan range 2,3- 4 mm, pada pelarut etil asetat sebesar 2-3,7 mm dan pada pelarut n-heksana sebesar 1,9-3,5 mm. Menurut Morales *et al.*, (2003) dalam Kusmarwanti *et al.*, (2008) zona hambat berdasarkan kekuatannya dapat dikategorikan yaitu,

lemah (<5mm), sedang (5-10mm), kuat (>10-20mm), dan sangat kuat (>20-30mm). Data hasil uji antibakteri tersaji pada Tabel 9 dan Gambar 13.

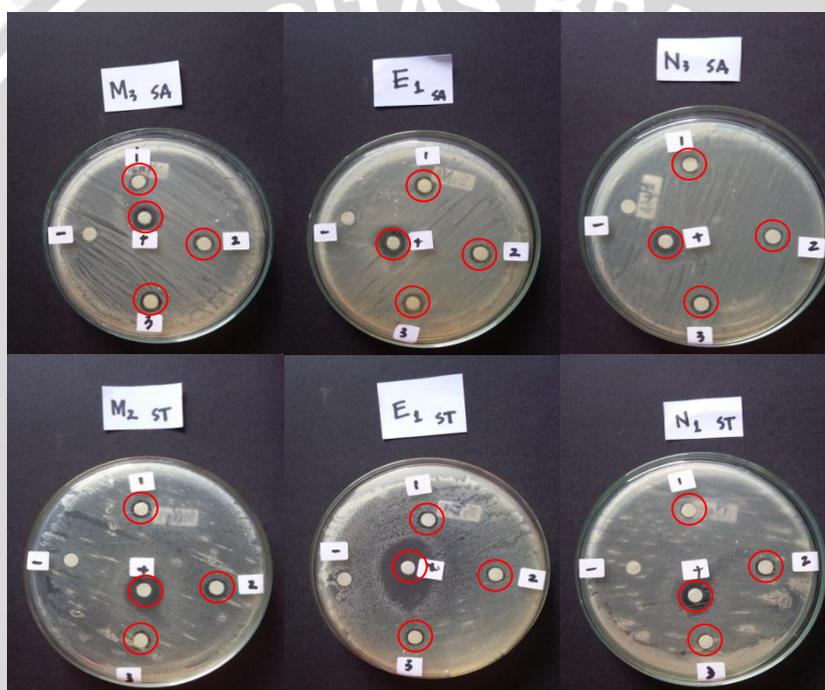
**Tabel 9.** Nilai rata-rata hasil uji aktivitas antibakteri

Pelarut	Bakteri	Konsentrasi	Inkubasi		Kategori Zona Hambat
			24 jam	48 jam	
			Zona hambat (mm)		
Metanol	<i>S.aureus</i>	125 ppm	2.4 ± 0.1	1.2 ± 0.2	Lemah
		250 ppm	3.9 ± 1	1.8 ± 0.3	Lemah
		500 ppm	4 ± 0.7	2.5 ± 0.5	Lemah
		Kontrol (+)	7.6 ± 0.6	7.6 ± 0.6	Sedang
		Kontrol (-)	0	0	-
	<i>S.Typhi</i>	125 ppm	2.3 ± 0.4	0	Lemah
		250 ppm	2.8 ± 0.9	0	Lemah
		500 ppm	2.3 ± 0.1	0	Lemah
		Kontrol (+)	9.6 ± 0.7	1.5 ± 0.1	Sedang
		Kontrol (-)	0	0	-
Etil asetat	<i>S.aureus</i>	125 ppm	2.9 ± 0.4	1.4 ± 0.6	Lemah
		250 ppm	3.1 ± 0.6	1.4 ± 0.5	Lemah
		500 ppm	3.7 ± 0.7	1.3 ± 0.1	Lemah
		Kontrol (+)	8.1 ± 0.8	6.4 ± 0.6	Sedang
		Kontrol (-)	0	0	-
	<i>S.Typhi</i>	125 ppm	2.9 ± 0.1	0	Lemah
		250 ppm	2.4 ± 0.3	0	Lemah
		500 ppm	2 ± 0.7	0	Lemah
		Kontrol (+)	10 ± 0.2	9.3 ± 0.4	Sedang
		Kontrol (-)	0	0	-
N-heksana	<i>S.aureus</i>	125 ppm	2.7 ± 0.5	0	Lemah
		250 ppm	3.1 ± 0.3	0	Lemah
		500 ppm	3.5 ± 0.3	0	Lemah
		Kontrol (+)	7.6 ± 0.6	5.4 ± 0.6	Sedang
		Kontrol (-)	0	0	-
	<i>S.Typhi</i>	125 ppm	1.9 ± 0.5	0	Lemah
		250 ppm	2.4 ± 0.5	0	Lemah

Pelarut	Bakteri	Konsentrasi	Inkubasi		Kategori Zona Hambat
			24 jam	48 jam	
			Zona hambat (mm)		
		500 ppm	2.1 ± 0.5	0	Lemah
		Kontrol (+)	9.6 ± 0.7	7.8 ± 2	Sedang
		Kontrol (-)	0	0	-

Keterangan :

- Nilai di atas adalah rata-rata ± SD
- SD adalah Standart Deviasi
- 5 ± 0 = tidak ada zona bening



**Gambar 13.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Keterangan : M = Metanol ; E = Etil asetat ; N = N-heksana  
 1=125ppm ; 2=250 ppm ; 3=500ppm  
 SA = *S.aureus* ; ST=*S.typhi*

Hasil penelitian menunjukkan adanya bioaktivitas antibakteri dari ekstrak kasar lamun *enhalus acoroides* dengan pelarut metanol (polar) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Hal tersebut dapat terlihat dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram pada konsentrasi 125;250;500 ppm. Rata-rata zona bening tertinggi yang terbentuk pada konsentrasi 500 ppm

terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar  $5 \pm 0.7$ , besarnya zona hambat tersebut masih dikategorikan lemah. Namun diameter zona bening pada konsentrasi 500 ppm tidak lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif yaitu kloramfenikol.

Bioaktivitas antibakteri dari ekstrak kasar lamun *enhalus acoroides* dengan pelarut etil asetat (semi polar) juga terbentuk terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 125;250;500 ppm. Rata-rata zona bening tertinggi yang terbentuk terlihat pada konsentrasi 500 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar  $3.7 \pm 0.7$ , besarnya zona hambat tersebut masih dikategorikan lemah. Namun diameter zona bening pada konsentrasi 500 ppm juga tidak lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif yaitu kloramfenikol.

Ekstrak kasar lamun *enhalus acoroides* dengan pelarut n-heksana (non polar) juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 125;250;500 ppm. Rata-rata zona bening tertinggi yang terbentuk terlihat pada konsentrasi 500 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar  $3.5 \pm 0.3$ , besarnya zona hambat tersebut masih dikategorikan lemah. Diameter zona bening pada konsentrasi 500 ppm juga tidak lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif yaitu kloramfenikol.

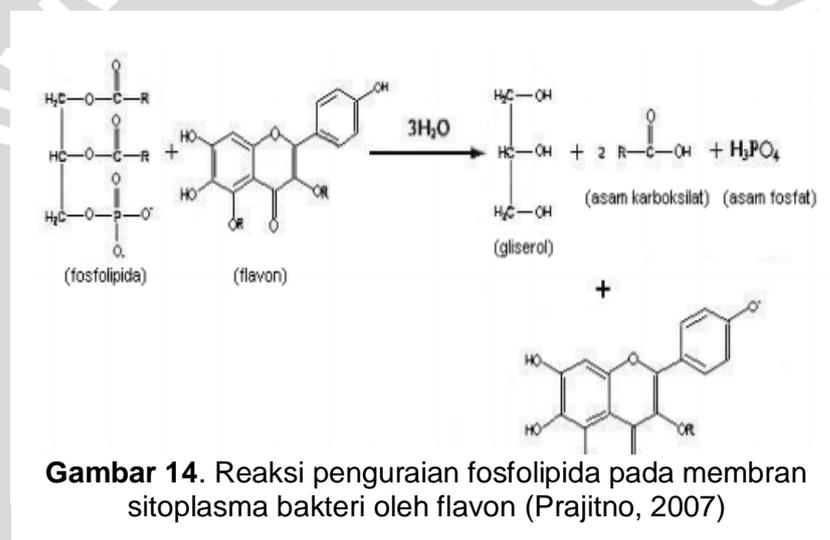
Terbentuknya zona hambat hal ini dikarenakan ekstrak kasar lamun *Enhalus acoroides* memiliki senyawa aktif yang bersifat sebagai antibakteri. Terjadinya penghambatan bakteri tersebut karena adanya reaksi suatu senyawa kimia sebagai antibakteri. Dewi (2012) menyebutkan bahwa keberadaan senyawa kimia golongan flavonoid, alkaloid dan steroid dalam ekstrak kasar *Enhalus acoroides* menunjukkan bahwa lamun tersebut memiliki potensi

sebagai bahan kimia alami antifouling, antibakteri, antifungi, serta bahan baku farmasi lainnya.

Ajizah (2004) dalam penelitiannya memaparkan bahwa kandungan alkaloid pada brotowali dapat mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Dengan demikian diduga penghambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* juga mungkin oleh adanya kandungan alkaloid pada lamun *Enhalus acoroides*. Flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat sintesis dari Asam Nukleat, menghambat fungsi dari membran sitoplasma, serta menghambat metabolisme energi (Cushnie, et al, 2005). Akan tetapi karena senyawa ini bersifat polar maka senyawa ini sulit untuk menembus dinding sel bakteri gram negatif yang banyak mengandung lipid (non polar).

Senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa kimia yang terkandung dalam *Enhalus acoroides* yang bersifat bakteriostatik. Flavonoid bekerja dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut serta membentuk kompleks dengan dinding sel, sedangkan sifat lipofilik dari flavonoid mengganggu membran mikroba. Keadaan ini secara perlahan akan menghambat *Staphylococcus aureus* untuk membentuk sistem pertahanannya. Setelah sistem pertahanannya terganggu, maka akan lebih mudah untuk menyerang bagian sel lain pada *Staphylococcus aureus* sehingga pertumbuhannya terhambat bahkan terbunuh. Volk dan Wheeler (1988) dalam Prajitno (2007) juga menjelaskan bahwa senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah

masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada perusakan membran sitoplasma, ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Reaksi penguraian fosfolipida pada membran sitoplasma bakteri oleh flavon ditunjukkan dalam Gambar 14.



Selain flavonoid senyawa lain yang terkandung dalam sambiloto adalah saponin, alkaloid dan tanin. Senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma (Robinson 2005 dalam Aulia, 2008). Rusaknya membran sitoplasma dapat mengakibatkan sifat permeabilitas membran sel berkurang sehingga transport zat ke dalam sel dan ke luar sel menjadi tidak terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti ion organik enzim, asam amino, dan nutrisi dapat keluar dari sel. Apabila enzim-enzim keluar dari sel bersama dengan zat-zat seperti air dan nutrisi dapat menyebabkan metabolisme

terhambat sehingga terjadi penurunan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, selanjutnya pertumbuhan sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan kematian sel.

Sedangkan alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Menurut Sumarsih (2003) dalam Lamapaha (2008) rangka dasar dinding sel bakteri adalah lapisan peptidoglikan. Peptidoglikan tersusun dari N-asetil glukosamin dan N-asetil asam muramat, yang terikat melalui ikatan 1,4-glikosida. Pada N-asetil asam muramat terdapat rantai pendek asam amino: alanin, glutamat, diaminopimelat, lisin dan alanin, yang terikat melalui ikatan peptida. Peranan ikatan peptida ini sangat penting dalam menghubungkan antara rantai satu dengan rantai yang lain. Mekanisme kerusakan dinding bakteri terjadi karena proses perakitan dinding sel bakteri yang diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel. *Staphylococcus aureus* merupakan gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal. Sehingga lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa yang punya potensi merusak atau menghambat sintesis dinding sel. Diduga kerja alkaloid terlebih dahulu merusak dinding sel dan dilanjutkan kerja flavonoid yang merusak membrane sel bakteri. Menurut Ajizah (2007) tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 500 ppm lebih besar dibandingkan dengan 125 ppm dan 250 ppm. Menurut penelitian Kusmiyati (2007) semakin besar konsentrasi ekstrak, semakin besar daya hambat yang dihasilkan karena pada konsentrasi yang besar, semakin tinggi aktivitas senyawa antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka senyawa aktif bakteri yang terkandung di dalamnya semakin banyak sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba semakin tinggi pula (Pelczar dan Chan 1986 dalam Adila *et al.*, 2013). Selanjutnya rata-rata ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan pelarut metanol (polar) menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan diameter zona bening rata-rata ekstrak lamun *Enhalus acoroides* pada pelarut etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar).

Hal tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan kepolaran pelarut dalam menarik senyawa pada lamun *Enhalus acoroides*. Pilihan pelarut mempengaruhi efektivitas dari kandungan senyawa bioaktif yang dapat ditarik dari lamun pada saat ekstraksi. Arlyza (2008) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa kemampuan sebagai antibakteri ekstrak lamun lebih baik pada pelarut polar (metanol) dibandingkan dengan ekstrak semipolar dan nonpolar. Hal ini diduga karena kandungan bahan aktif lamun *Enhalus acoroides* cenderung bersifat polar.

#### **4.5.1 Respon Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella Typhi* Terhadap Ekstrak Lamun *Enhalus acoroides***

Kemampuan antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan pada *Salmonella typhi*. Hal ini diduga karena bakteri *Staphylococcus aureus*

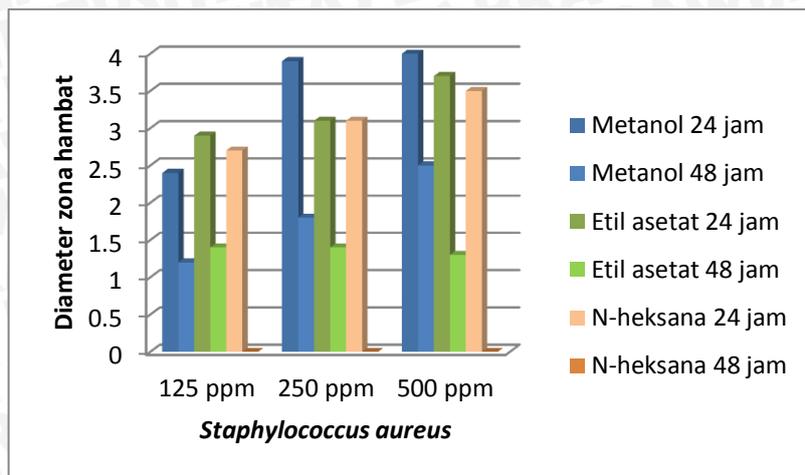
merupakan bakteri gram positif yang sensitif terhadap senyawa-senyawa aktif karena dinding selnya tidak mengandung peptidoglikan seperti yang terdapat pada bakteri gram negatif. Hal tersebut didukung oleh penelitian Nurfadilah (2013) yang mengujikan ekstrak tersebut pada beberapa bakteri uji dan menunjukkan bahwa zona bening yang dihasilkan pada *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri uji yang lain.

Pada penelitian ini menunjukkan hasil zona bening yang tidak lebih baik dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Zuhud *et al.*, (2001) menyatakan bahwa bakteri gram negatif memiliki sistem seleksi terhadap zat-zat asing yaitu pada lapisan polisakarida. Bakteri gram negatif memiliki tiga lapisan dinding sel yaitu lipopolisakarida, peptidoglikan dan protein sehingga senyawa yang terkandung pada lamun tidak dapat dengan mudah merusak dinding sel bakteri *Salmonella typhi*. Sedangkan pada bakteri gram positif memiliki satu lapisan dinding sel sehingga molekul dari luar mudah menembus dinding sel. Pernyataan ini didukung oleh Abeysinghe (2011) dalam Setiawan (2014) bahwa bakteri gram negatif memiliki lapisan lipopolisakarida dan fosfolipid yang merupakan komponen utama lapisan terluarnya, yang dapat menghambat akses komponen antibakteri menuju lapisan peptidoglikan pada dinding sel. Selain itu senyawa antibakteri yang terkandung pada lamun merusak dinding sel dan mempengaruhi integritasnya. Kerusakan pada dinding sel dapat menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas dan terjadi kebocoran sel yang diikuti dengan keluarnya materi intraseluler.

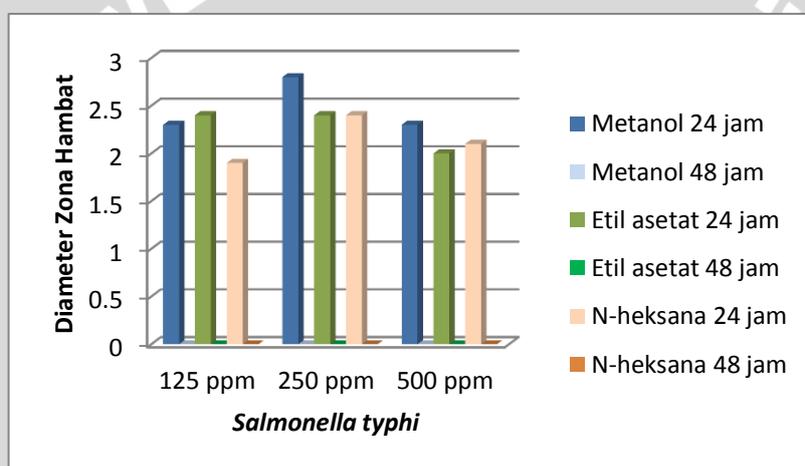
#### 4.5.2 Sifat antibakteri lamun *Enhalus acoroides*

Berdasarkan sifat toksisitas selektif antibakteri dibagi menjadi dua, yaitu antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (aktivitas bakteriostatik) dan antibakteri yang bersifat membunuh bakteri (aktivitas bakterisidal). Aksi antibakteri sebagai bakterisidal maupun bakteriostatik sangat tergantung pada dosis/daya aktif dari konsentrasi antibakteri yang diberikan. Selanjutnya dikatakan bahwa aktivitas antibakteri tertentu dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisidal bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi kadar hambat minimal (Nendissa, 2012). Syarat suatu zat dikatakan bakteriostatik bila menunjukkan penyempitan zona bening setelah inkubasi 24 jam, dikatakan bakterisida bila membentuk zona bening yang tetap bening sampai waktu inkubasi 48 jam (Dani *et al*, 2011).

Waktu yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 jam dan 48 jam. Setiap waktu pengamatan dilakukan pengukuran zona hambat dari pengaruh ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Waktu inkubasi 24 jam memiliki efektifitas hambatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan waktu pengamatan 48 jam (Gambar 15 dan Gambar 16). Penambahan waktu inkubasi pada uji daya hambat menunjukkan penurunan besar zona bening. Zona hambat yang terbentuk pada waktu inkubasi 48 jam memiliki diameter lebih kecil daripada waktu inkubasi 24 jam. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri).



**Gambar 15.** Grafik sifat antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terhadap *Staphylococcus aureus*



**Gambar 16.** Grafik sifat antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terhadap *Salmonella typhi*

#### 4.5.1 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri Ekstrak Lamun *Enhalus acoroides*

Sifat antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* didapat dari beberapa senyawa, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut (Rijayanti, 2014).

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara inaktivasi protein (enzim) pada membran sel sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu yang akan berakibat pada hilangnya makromolekul dan ion dari sel, sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan terjadi lisis (Maharani *et al.*, 2012).

Senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Noer *et al.*, 2006).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Rijayanti, 2014).

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

## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian tentang pengaruh polaritas jenis pelarut terhadap aktivitas antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* adalah :

1. Komposisi senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak lamun *Enhalus acoroides* yaitu, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid.
2. Zona hambat yang terbesar terbentuk pada ekstrak lamun dengan pelarut metanol (polar) dibandingkan dengan pelarut etil asetat (semi polar) dan n-heksana (non polar).
3. Zona hambatan yang terjadi pada ekstrak lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa bahan aktif antibakteri bersifat bakteriostatik.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini, adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap aktivitas antibakteri pada bagian-bagian lamun *Enhalus acoroides* seperti pada batang, buah dan akar dengan metode ekstraksi yang berbeda dan dengan meningkatkan konsentrasi. Pada proses pengenceran dan sebagai kontrol negative seharusnya menggunakan larutan yang sama yaitu DMSO, agar meyakinkan bahwa hambatan yang terbentuk bukan karena faktor pelarut melainkan dari ekstrak. Selain itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut seperti MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan KKT sehingga didapatkan fraksi-fraksi pada lamun *Enhalus acoroides*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adila Rahmi, Nurmiati, Agustien Anthoni. 2013. Uji Antimikroba *Curcuma* spp. Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Biologi Universitas Andalas. Vol. 2, No. 1: 1-7
- Ajizah, Aulia; Tihana; Mirhanuddin. 2007. Potensi Ekstrak Kayu Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. On\_line. Tersedia di:[http://bioscientiae.unlam.ac.id/v4n1/v4n1\\_ajizah.pdf](http://bioscientiae.unlam.ac.id/v4n1/v4n1_ajizah.pdf). Skripsi
- Ali M.S, Ravikumar, S., dan 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, Siti. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Cymodocea Rotundata*. Bogor: Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor
- Arianta, A., dan Joni K. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Gambir (*Uncaria gambir*) Metode Microwave-Assisted Extraction Terhadap Bakteri Patogen. Malang: Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya
- Arlyza, I. S. 2008. Ekstrak Lamun Sebagai Sumber Alternatif Antibakteri Penghambat Bakteri Pembentuk Biofilm. Oseanologi dan Limnologi di Indonesia 34 (2) 207 -225. ISSN 0125 – 9830
- Aulia, Ismi Arsyi. 2008. Uji aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (*duchesnea indica* (andr.) Focke) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya
- Azkab M.H. 1999. Pedoman Inventarisasi Lamun. Oseana, Volume XXIV, Nomor 1, 1999 : 1-16. Jakarta : LIPI
- Azkab, M. H. (2006). Ada Apa Dengan Lamun. Oseana, Volume XXXI, Nomor 3, 2006 : 45 – 55. Jakarta :LIPI.
- Brooks, G. F., J. S. Butel., dan S. A. Morse. 2005. Medical Microbiology. McGraw Hill: New York.
- Collegate SM, Mollyneux RJ. 2008. *Bioactive Natural Products*. London : CRC Press.
- Cowan, M. 1999. Plant Product as Antimicrobial. Clinica Microbiology Reviews. Vol 12(4) : 564-582.

- Cushnie, T, Andrew J. Lamb, 2005, Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. The Robert Gordon University. Vol.26: 343-356
- Danata,R.H. 2014. Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove Avicenia Marina Yang Tumbuh Pada Habitat Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Vibrio alginoliticus*. Malang: Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
- Dani, Ira Wulan., Kiki Nurtjahja., dan Cut Fatimah Z. 2011. Penghambatan Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan *Fusarium moniliforme* Oleh Ekstrak Salam (*Eugenia polyantha*) Dan Kunyit (*Curcuma domestica*). FMIPA Universitas Sumatra Utara : Medan.
- Dewi, C. S. U. 2013. Potensi Lamun Jenis *Enhalus acoroides* Dan *Thalassia Hemprichii* Dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta sebagai Bioantifouling. Bogor : IPB
- El-Hady, Howayda H.Abd., S.M. Daboor dan Awatef E.Ghonemy. 2007. Nutritive And Antimicrobial Profiles Of Some Seagrasses From Bardwil Lake, Egypt. Egyptian Journal Of Aquatic Research Vol.33. No.3,2007: 103-110. ISSN: 1678-4285
- Fajarullah, Aulia., Henky Irawan., dan Arief Pratomo. 2013. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Lamun *Thalassodendron ciliatum* Pada Pelarut Berbeda. Program Studi Ilmu Kelautan, FIKP UMRAH
- Fardiaz S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT. Raja Grafindo Persada; Jakarta
- Gupta S, Cox S, Ghannam NA. 2011. Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. Food Science and Technology. 44: 1266-1272.
- Harborne, Jb. 1987. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan Kedua. Diterjemahkan oleh Dr. Kasasih Padmawinata dan Dr. Iway Soediro. Bandung : Institut Teknologi Bandung
- Harbourne N, Marete E, Jacquier JC, O'Riordan D. 2009. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). Journal Food Science and Technology42:1468-1473.
- Helglmeier A, Zidorn C. 2010. Secondary metabolites of *Posidonia oceanica*(*Posidoniaceae*). Journal Biochemical Systematic and Ecology 38:964-970.
- 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.

- Kristanti, A.N., Nanik S.A., Mulyadi, T., dan Bambang, K. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press
- Kusmarwanti, A., dan Ninoek Indriati. 2008. Daya Hambat Ekstrak Bahan Aktif Biji Picung (*Pangium Edule Reinw.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penghasil Histamin. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, DKP. Vol. 3 No. 1
- Lamapaha, Yulia F. 2008. Potensi Lengkuas (Lenguas Galanga) Sebagai Antimikroba. On\_line. Tersedia di: <http://www.scribd.com/doc/16898626/POTENSI-LENGKUAS>. Skripsi
- Maharani, R.S., Depi Praharani., dan Purwanto, M. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans* (Antibacterial Activity of Pare Leaf (*Momordica charantia*) Extract on Inhibition of *Streptococcus viridans* Growth). Universitas Jember
- Montano MNE, Bonifacio RS, Rumbaoa RGO. 1999. Proximate analysis of the flour and starch from *Enhalus acoroides* (L.f) royle seeds. *Journal Aquatic Botany*. 65:321-325.
- Mulyanto, K. C. Bakteri Pada Ikan Dan Hasil Laut. ITD. UA
- Nendissa, Dessire.M. 2012. Analisa Kemampuan Alga Hijau Silpau (*Dictyosphaeria versluysii*) Sebagai Antibakteri. Unpatti
- Noer, I.S.,Nurhayati, L. 2006. Bioaktivitas *Ulva reticulata* Forsskal. Asal Gili Kondo Lombok Timur Terhadap Bakteri. *Jurnal Biotika*. Vol. 5 (1) : 45-60.
- Nurfadillah. 2013. Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Lamun Dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin
- Oktavianus, S. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin: Makassar
- Paramita, D.N dan M.Teguh W. 2011. Antibacteri effect of green tea (*Camellia sinensis*) To *Staphylococcus aureus* In Vitro. University of Airlangga. *Jurnal Medika Planta*. Vol.1 No.3.
- Perez-Jimenez, J., dan Saura-Calixto, F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Journal of Food Research International* 39:791-800.
- Prajitno, Arief. 2007. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumpun Laut (*Eucaema Cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. Skripsi. Fakultas Perikanan, Universitas Brawijaya

- Pringgencies, D. 2009. Bioproteksi Bakteri Symbion Dari Gastropoda *Conus miles* Terhadap Strain Bakteri MDR (Multi Drug Resistant). Ilmu Kelautan, Maret 2009. Vol. 14(1): 42-49
- Priyanto, R.A., 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Komponen Bioaktif Pada Buah Bakau (*Rhizophora mucronata Lamk*), Skripsi, Institut Pertanian Bogor
- Putri, A. U. 2013. Uji Potensi Antifungi Ekstrak Berbagai Jenis Lamun Terhadap Fungi *Candida albicans*. Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Qi Shi-Hua, Si Zhang, Pei-Yuan Qian, dan Bin-Gui Wang. 2008. Antifeedant, antibacterial, and antilarval compounds from the South China Seagrass *Enhalus acoroides*. In Press. Botanica Marina, Vol 51.
- Rijayanti, Rika P., Sri Luliana., dan Heru Fajar 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. Jatinagor
- Rumiantin, O. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Enhalus acoroides*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan . Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sari, D. S. N. 2013. Potensi Lamun *Enhalus acoroides* Dan *Thalassia hemprichii* Dari Peraian Pulau Pramuka Kepulauan Seribu Sebagai Antioksidan Dan Aktivitasnya Dalam Menghambat Pembentukan Peroksida. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Jatinagor
- Satari, M.H. 2008. Multidrug Resistance (MDR) Bakteri Terhadap Antibiotik. Universitas Padjajaran: Bandung
- Saxena, M., Jyoti S., Rajeev N., Dharmendra S., dan Abhishek G. 2013. Phytochemistry of Medicinal Plants. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. India IC Journal No: 8192 Volume 1 Issue 6
- Setiawan, A. T. 2014. Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Daun *Avicennia alba*, *Avicennia marina* Dan *Rhizophora mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang
- Setyawan, A.D., dan Darusman, L.K. 2008. Senyawa Biflavonoid pada *Selaginella Pal. Beauv.* dan Pemanfaatannya. IPB Bogor. Volume 9, Nomor 1 Halaman: 64-81
- Sirait. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB

- Supriyadi, I.H., & T. E. Kurinadewa. 2008. Seagrass Distribution at Small Island: Derawan Archipelago, East Kalimantan Province, Indonesia. *Oceanologi dan Limnologi di Indonesia*. 34 (1) p: 83-99
- Susanti DY. 2008. Efek suhu pengeringan terhadap kandungan fenolik dan kandungan katekin ekstrak daun kering gambir. Di dalam: *Gelar Teknologi dan Seminar Nasional Teknik Pertanian*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Pertanian; Yogyakarta 18-19 november 2008. hlm 1-13
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., dan Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review, *International Pharmaceutical Scienca Volume 1 Issue 1*
- Ulva, F.S., Apri D.A., dan Romadhon. 2014. Uji Potensi Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ekstraksi Bertingkat Pada Lamun Dugong (*Thalassia hemprichii*) Dari Perairan Jepara. *Undip*. Volume 3, Nomer 3, Halaman 32-39
- Victor, L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Test*. The Williams and Wilkins Company, USA.
- Waycott M., dan Collier C. 2004. *A Guide Tropical Seagrasses of The Indo-West Pacific*. Townsville: James Cook University.
- Winarno FG. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Bogor: M-Brio Press.
- Zuhud, E.A.M, Winiati P.R, Hanny, W.C, Pipi, P.S. 2001. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedaung (*Parkia roxburghii* G Don) Terhadap Bakteri Pathogen. *Teknologi & Industri Pangan*, XII(1): hal. 6-12

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Perhitungan Larutan DMSO 10%

#### a. Larutan DMSO 10%

Rumus Pengenceran :  $V1 \times M1 = V2 \times M2$

$$V1 \times 100 = 100 \times 10$$

$$V1 = \frac{1000}{100}$$

$$= 10 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat DMSO 10% adalah 10 ml DMSO ditambahkan pelarut aquades sebanyak 90 ml hingga volume larutan 100 ml.

### Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi

- Larutan Stok 1000 ppm

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

Jadi, untuk membuat larutan stok 1000 ppm adalah 0,01 gr ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dilarutkan dengan DMSO 10% sebanyak 10 ml.

- Larutan ekstrak konsentrasi 500 ppm

Rumus Pengenceran :  $V1 \times M1 = V2 \times M2$

$$V1 \times 1000 = 1 \times 500$$

$$V1 = \frac{500}{1000}$$

$$= 0,5 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 500 ppm adalah 0,5 ml ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dari larutan stok ditambahkan pelarut DMSO 10% sebanyak 0,5 ml hingga volume larutan 1 ml.

- Larutan ekstrak konsentrasi 250 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 1 \times 250$$

$$V1 = \frac{250}{1000}$$

$$= 0,25 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 250 ppm adalah 0,25 ml ekstrak lamun

*Enhalus acoroides* dari larutan stok ditambahkan pelarut DMSO 10% sebanyak

0,75 ml hingga volume larutan 1 ml.

- Larutan ekstrak konsentrasi 200 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 = 1 \times 125$$

$$V1 = \frac{125}{1000}$$

$$= 0,125 \text{ ml}$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 125 ppm adalah 0,125 ml ekstrak lamun

*Enhalus acoroides* dari larutan stok ditambahkan pelarut methanol sebanyak

0,875 ml hingga volume larutan 1 ml.

**Lampiran 3.** Perhitungan Pembuatan Media

Media NA (*Natrium Agar*) dalam cawan petri :

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Massa Jenis NA}}{1000} \times \text{Jumlah Cawan} \times \text{Volume Cawan} \\ &= \frac{23}{1000} \times 18 \times 20 \text{ ml} \\ &= 8.28 \text{ gr} \end{aligned}$$

Media NA yang dibutuhkan untuk membuat media uji antibakteri dalam cawan petri sebanyak 3 kali ulangan adalah 8.28 gr.

Media NA (*Natrium Agar*) untuk peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dalam tabung reaksi:

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Massa Jenis NA}}{1000} \times \text{Jumlah Tabung Reaksi} \times \text{Volume Tabung Reaksi} \\ &= \frac{23}{1000} \times 4 \times 10 \text{ ml} \\ &= 0.92 \text{ gr} \end{aligned}$$

Media NA yang dibutuhkan untuk peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dalam tabung reaksi sebanyak 0,92 gr.

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian Lapangan

No.	Gambar	No.	Gambar
1		2	
Ket	Lokasi pengambilan sampel	Ket	Lamun <i>Enhalus acoroides</i>
3		4	
Ket	Proses pengeringan lamun	Ket	Proses pengeringan lamun

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian Laboratorium

No. 1		No. 4	
Ket	Evaporator	Ket	Kertas cakram
No. 3		No. 6	
Ket	Autoklaf	Ket	Inokulasi bakteri
			
Ket	Penuangan media		Alat dan bahan uji antibakteri

## Lampiran 6. Hasil Uji Antibakteri

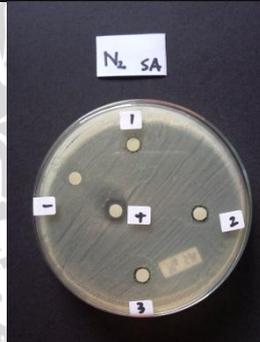
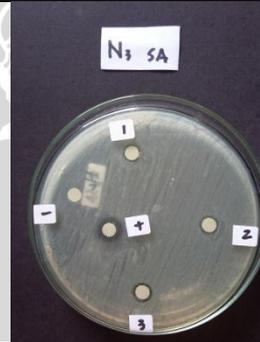
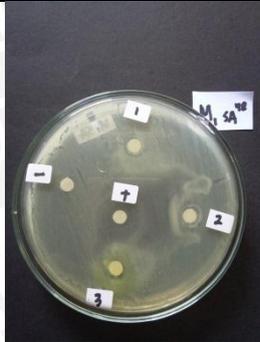
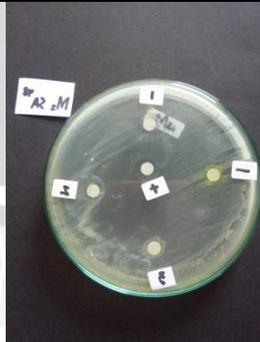
## • Pengamatan zona bening 24 jam

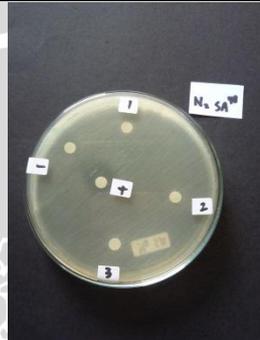
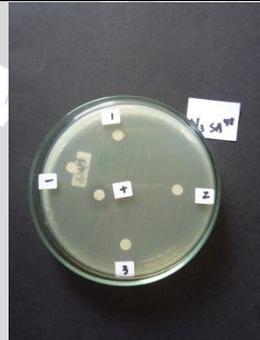
Pelarut	Bakteri	Ulangan	Zona Bening (mm)*				
			125 ppm	250 ppm	500 ppm	Kontrol (+)	Kontrol (-)
Metanol	<i>S.aureus</i>	1	2.6	4.9	4.5	6.9	0
		2	2.3	3.9	4.4	8.1	0
		3	2.3	2.9	3.2	7.8	0
		Rerata	2.4 ± 0.1	3.9 ± 1	4 ± 0.7	7.6 ± 0.6	0
	<i>S.Typhi</i>	1	2.7	3.9	2.5	8.8	0
		2	2.4	2.5	2.3	10.3	0
		3	1.8	2.1	2.3	9.8	0
		Rerata	2.3 ± 0.4	2.8 ± 0.9	2.3 ± 0.1	9.6 ± 0.7	0
Etilasetat	<i>S.aureus</i>	1	3.4	2.6	3.5	7.2	0
		2	2.5	3.8	4.6	8.6	0
		3	2.8	2.9	3.1	8.7	0
		Rerata	2.9 ± 0.4	3.1 ± 0.6	3.7 ± 0.7	8.1 ± 0.8	0
	<i>S.Typhi</i>	1	3.7	2.5	2.3	9.8	0
		2	2.9	2.7	2.6	10.2	0
		3	2.4	2.1	1.2	10	0
		Rerata	3 ± 0.6	2.4 ± 0.3	2 ± 0.7	10 ± 0.2	0
N-heksan	<i>S.aureus</i>	1	3.2	3.5	3.9	8.8	0
		2	2.2	2.9	3.2	8.5	0
		3	2.7	3.1	3.6	7.9	0
		Rerata	2.7 ± 0.5	3.1 ± 0.3	3.5 ± 0.3	8.4 ± 0.4	0
	<i>S.typhi</i>	1	2.5	2.9	2	12.9	0
		2	1.6	2.6	1.6	11.7	0
		3	1.6	1.8	2.7	11.2	0
		Rerata	1.9 ± 0.5	2.4 ± 0.5	2.1 ± 0.5	11.9 ± 0.8	0

• Pengamatan zona bening 48 jam

Pelarut	Bakteri	Ulangan	Zona Bening (mm)*				
			125 ppm	250 ppm	500 ppm	Kontrol (+)	Kontrol (-)
Metanol	<i>S.aureus</i>	1	1.5	1.9	2	5.3	0
		2	1.1	1.5	3.1	5.1	0
		3	1.1	2.2	2.4	5.6	0
		Rerata	1.2 ± 0.2	1.8 ± 0.3	2.5 ± 0.5	5.3 ± 0.2	0
	<i>S.typhi</i>	1	0	0	0	1.6	0
		2	0	0	0	1.4	0
		3	0	0	0	1.4	0
		Rerata	0	0	0	1.5 ± 0.1	0
Etilasetat	<i>S.aureus</i>	1	1.1	2	1.4	5.6	0
		2	1	1	1.2	6.8	0
		3	2.1	1.4	1.4	6.8	0
		Rerata	1.4 ± 0.6	1.4 ± 0.5	1.3 ± 0.1	6.4 ± 0.6	0
	<i>S.typhi</i>	1	0	0	0	8.9	0
		2	0	0	0	9.4	0
		3	0	0	0	9.8	0
		Rerata	0	0	0	9.3 ± 0.4	0
N-heksan	<i>S.aureus</i>	1	0	0	0	6.2	0
		2	0	0	0	5	0
		3	0	0	0	5	0
		Rerata	0	0	0	5.4 ± 0.6	0
	<i>S.typhi</i>	1	0	0	0	9.2	0
		2	0	0	0	8.8	0
		3	0	0	0	5.5	0
		Rerata	0	0	0	7.8 ± 2	0

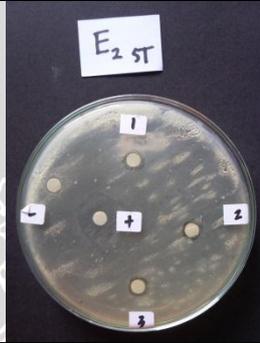
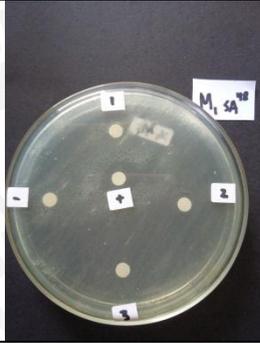
Lampiran 7. Hasil Pengujian Antibakteri *Staphylococcus aureus*

Pengamatan 24 Jam					
No	Gambar	No	Gambar	No	Gambar
1		2		3	
	Ket : Metanol		Ket : Metanol		Ket : Metanol
4		5		6	
	Ket : Etil asetat		Ket : Etil asetat		Ket : Etil asetat
7		8		9	
	Ket : N-heksan		Ket : N-heksan		Ket : N-heksan
Pengamatan 48 Jam					
No	Gambar	No	Gambar	No	Gambar
1		2		3	
	Ket : Metanol		Ket : Metanol		Ket : Metanol

Pengamatan 48 Jam					
No	Gambar	No	Gambar	No	Gambar
4		5		6	
	Ket : Etil asetat		Ket : Etil asetat		Ket : Etil asetat
7		8		9	
	Ket : N-heksan		Ket : N-heksan		Ket : N-heksan



Lampiran 8. Hasil Pengujian Antibakteri *Salmonella typhi*

Pengamatan 24 Jam					
No	Gambar	No	Gambar	No	Gambar
1		2		3	
	Ket : Metanol		Ket : Metanol		Ket : Metanol
4		5		6	
	Ket : Etil asetat		Ket : Etil asetat		Ket : Etil asetat
Pengamatan 24 Jam					
No	Gambar	No	Gambar	No	Gambar
7		8		9	
	Ket : N-heksan		Ket : N-heksan		Ket : N-heksan
Pengamatan 48 Jam					
No	Gambar	No	Gambar	No	Gambar
1		2		3	
	Ket : Metanol		Ket : Metanol		Ket : Metanol

4		5	6
Ket : Etil asetat		Ket : Etil asetat	
7		8	9
Ket : N-heksan		Ket : N-heksan	

