UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA EKSTRAK DAUN DAN AKAR LAMUN Enhalus acoroides DARI PERAIRAN PACIRAN, KABUPATEN LAMONGAN TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus

SKRIPSI
PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

Oleh: DESY SETYONINGRUM NIM. 115080601111057



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2015

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA EKSTRAK DAUN DAN AKAR LAMUN Enhalus acoroides DARI PERAIRAN PACIRAN, KABUPATEN LAMONGAN TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus

SKRIPSI PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN JURUSAN PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN DAN KELAUTAN

Sebagai Salah SatuSyarat untuk Meraih Gelar Sarjana Kelautan Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

> Oleh: DESY SETYONINGRUM NIM. 115080601111057



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2015

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA EKSTRAK DAUN DAN AKAR LAMUN Enhalus acoroides TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus

Oleh: DESY SETYONINGRUM NIM. 115080601111057

Telah dipertahankan di depan penguji Pada tanggal 2 Juli 2015 Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dan	dinyatakan telah mem	nenuhi syarat
Dosen Penguji I		Menyetujui, Dosen Pembimbing I
Feni Iranawati, S.Pi, M. NIP. 19740812 200312 2 Tanggal :	2 001	Ade Yamindago, S. Kel, M.Sc. MP. NIP. 19840521 200801 1 002 Tanggal :
Dosen Penguji II		Dosen Pembimbing II
Rarasrum Dyah Kasitow NIK. 201304609152001 Tanggal :	2,	Syarifah Hikmah J.S., S.Pi, M.Sc NIP. 19840720 201404 2 002 Tanggal :
	Mengetahui, Ketua Jurusan PSPK	AS BRAIN AS BRAIN SITAS BR
	Dr. Ir. Daduk Setyoha NIP. 19630608 19870	

Tanggal: _

PERNYATAAN ORISINILITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Desy Setyoningrum

NIM : 115080601111057

Program Studi : Ilmu Kelautan

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar benarnya bahwa dalam Skripsi ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri yang dibimbing oleh dosen pembimbing di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan laporan ini adalah hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 2 Juli 2015

Penulis,

DESY SETYONINGRUM NIM. 115080601111057

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan do'a dan kelimpahan rahmat. Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar – besarnya kepada:

- Bapak Ade Yamindago, S.Kel., M.Sc. sebagai Dosen Pembimbing I dan Ibu Syarifah Hikmah J.S., S.Pi, M.Sc, sebagai Dosen Pembimbing II Skripsi yang telah memberi pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan skripsi.
- 2. Ibu Feni Iranawati, S.Pi, M.Si, Ph.D sebagai Dosen Penguji I dan Ibu Rarasrum Dyah Kasitowati, S.Kel, M.Sc sebagai Dosen pengiji II Skripsi yang memberi masukan, saran dan koreksinya selama ujian skripsi.
- Citra Satrya Utama Dewi, S.Pi., M.Si terima kasih banyak atas masukan, saran dan koreksinya selama proses usulan skripsi dan proses penelitian.
- Sujud dan terima kasih yang dalam penulis persembahkan kepada Ibu dan
 Bapak tercinta yang senantiasa memberikan dukungan moril maupun materiil serta senantiasa mendoakan anaknya untuk menjadi yang terbaik.
- 5. Kepada dua cowok ganteng Andre Syafriotman dan Aldila Galuh Verlanda yang selalu ada dan meluangkan waktunya buat nemenin aku ngerjain skripsi ini sampai selesai, terima kasih juga udah jadi penyemangatku.
- Kepada Intan Sexy, Dindoo Pelo, Udin Pesek, Mad dan Yafi sebagai penyemangat dan penggembira. Terima kasih saudara-sadaraku.
- 7. Kepada **Devi, Doni, Betzi dan Yafis** sebagai teman satu tim dalam penelitian Antibakteri. Saya ucapkan terima kasih yang banyak.

- 8. Semua baik kawan dalam korps Hijau hitam saya ucapkan terima kasih khususnya kepada **Saudara-Saudaraku Green Zone 2011** atas dukungan kalian, aku bisa nyelesaikan skripsiku.
- 9. Kepada Ria dan Ovil (THP'11) dan Nur Wasilah (BP'11), terima kasih rek atas bantuan kalian, penelitian ku berjalan lancar.
- 10. Teman-teman Ilmu Kelautan 2011 (Magelhaens) yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas dukungan dan bantuannya

Malang, 2 Juli 2015

Desy Setyoningrum



RINGKASAN

Desy Setyoningrum. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Akar Lamun Enhalus acoroides Dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus (di bawah bimbingan Ade Yamindago, S.Kel., M.Sc. dan Syarifah Hikmah J.S, S.Pi, M.Sc)

Pemilihan antibiotik merupakan salah satu hal yang penting dalam pengobatan terhadap kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik dalam jumlah banyak dan cara penggunaan yang salah dapat menyebabkan tingginya jumlah bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Beberapa efek samping yang ditimbulkan berupa efek toksik dan reaksi alergi lainnya.Salah satunya alternatif yang dapat digunakan untuk mengurangi efek samping yang ditimbulkan adalah dengan menggunakan antibakteri yang bersifat alami. Salah satu komoditas laut yang berpotensi sebagai antibakteri yang bersifat alami adalah lamun. Lamun Enhalus acoroides mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, dll. Senyawa-senyawa aktif yang terdapat pada lamun Enhalus acoroides berpotensi sebagai antibakteri. Untuk mengetahui potensi antibakteri yang terkandung pada lamun Enhalus acoroides sebagai antibakteri dilakukan pengujian terhadap bakteri Staphylococcus aureus. Bakteri aureus dikenal sebagai MRSA Staphylococcus (Methicilin Staphylococcus aureus), karena umumnya bakteri ini resisten terhadap antibiotik golongan methicillin.

Tujuan dari penelitian ini adalah (1) mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* (2) mengetahui adanya aktivitas atau potensi antibakteri pada ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan melihat zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram dan(3) mengetahui perbedaan zona hambat terhadap konsentrasi dan organ lamun (daun dan akar).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen. Data yang diperoleh berupa parameter lingkungan dan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak dianalisis secara deskriptif. Perbedaan kemampuan aktivitas antibakteri dari daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (berdasarkan zona hambat) dianalisis menggunakan ANOVA (*Analisys Of Variance*), jika terdapat perbedaan pengaruh konsentrasi serta antara daun dan akar terhadap bakteri uji dilakukan uji BNT (Beda Nyata terkecil).

Hasil penelitian menunjukkan uji fitokimia pada ekstrak etanol daun lamun *Enhalus acoroides* terdapat kandungan senyawa aktif golongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin sedangkan ekstrak etanol akar lamun diidentifikasi senyawa aktif golongan alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid. Aktivitas antibakteri ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* yang berasal dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya zona hambat atau zona hambat di sekitar kertas cakram. Perbedaan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan adanya zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Mu, penulis dapat menyajikan Laporan Skripsai yang berjudul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Akar Lamun *Enhalus acoroides* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Progam Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Lamun adalah tumbuh-tumbuhan berbunga (Angiospermae) yang hidup dan berkembang biak pada lingkungan perairan laut dangkal yang selalu mendapat genangan air ataupun terbuka saat air surut, pada substrat pasir, pasir berlumpur,lumpur lunak dan karang. Lamun jenis Enhalus acoroides belum banyak dimanfaatkan secara ekonomi, padahal potensi yang dimiliki oleh lamun sangat banyak salah satunya seperti antibakteri. Uji atibakteri dilakukan dengan metode cakram dengan melihat zona hambat yang terdapat disekitar kertas cakram.

Dari situlah peneliti menyadari bahwa ekstrak lamun dapat dmanfaatkan sebagai obat-obatan secara alami. Dan mungkin hanya inilah yang dapat penulis sampaikan. Apabila ada yang kurang baik kelengkapan atau ketelitian penulis mengucapkan maaf dan terima kasih atas pengertiannya.

Malang, 2 Juli 2015

Desy Setyoningrum

DAFTAR ISI

	Halamar
RINGKASAN	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	
DAFTAR GAMBAR DAFTAR LAMPIRAN	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Kegunaan Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Lamun	6
2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi Lamun Enhalus acoroides	6
2.1.2 Potensi Bioaktif Lamun	7
2.2 Ekstraksi Senyawa Bioaktif	
2.3 Kandungan Senyawa Aktif Lamun	10
2.3.1 Senyawa Alkaloid	11
2.3.2 Senyawa Flavonoid	11
2.3.3 Senyawa Steroid	12 10
2.3.2 Senyawa Flavonoid	12 13
2.4 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Senyawa Aktif	13 12
2.4.1 Salinitas	1/
2.4.1 Salinitas	1/
2.4.3 Derajad Keasaman (pH)	12
2.5 Uji Antibakteri	
2.6 Bakteri Uji	
2.6.1 Stapylococcus aureus	
3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	
3.2 Alat dan Bahan	
3.2.1 Alat	18
3.2.2 Bahan	19
3.3 Metode Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian	
3.4.1 Pengambilan Sampel Lamun di Lapang	
3.4.2 Ekstraksi Lamun Enhalus acoroides	
3.4.3 Uji Fitokimia	24

3.4.4 Skema Uji Antibakteri dengan Metode Cakram	
3.5 Rancangan Penelitian	28
3.6 Analisis Data	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
	va ivietabolit
Sekunder Lamun <i>Enhalus acoroides.</i>	
4.1.2 Salinitas	32
4.1.3 Derajad Keasaman (pH)	
4.1.4 Oksigen Terlarut (DO)	
4.2 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak D	
Lamun Enhalus acoroides	
4.3 Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Daun dan Akar Lamun En	
acoroides	
4.3.1 Ekstrak Daun Lamun Enhalus acoroides	
4.3.2 Ekstrak Akar lamun Enhalus acoroides	
4.3.3 Perbandingan Zona Hambat Ekstrak Daun dan Akar L	
Enhalus acoroides	
4.4 Sifat Antibakteri Ekstrak Daun dan Akar Lamun Enhalus a	
4.5 Perbedaan Zona Hambat terhadap Konsentrasi dan Organ	nnya49
5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	58



DAFTAR TABEL

Halaman
Tabel 1. Komponen senyawa-senyawa bioaktif pada lamun8
Tabel 2. Alat yang digunakan dalam penelitian uji antibakteri
Tabel 3. Bahan yang digunakan dalam penelitian uji antibakteri19
Tabel 4. Model Rancangan Penelitian
Tabel 5. Nilai parameter lingkungan di perairan Paciran, Kabupaten Lamongan31
Tabel 6. Kandungan senyawa fitokimia Ekstrak <i>Enhalus acoroides</i> dengan pelarut etanol 96%
Tabel 7. Hasil pengujian aktivitas hambat ekstrak etanol daun lamun <i>Enhalus</i> acoroides terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>
Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas hambat ekstrak etanol akar lamun <i>Enhalus acoroides</i> terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>
Tabel 9. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun dan akar <i>Enhalus</i> acoroides terhadap bakteri <i>Staphylococcua aureus</i>
Tabel 10. Uji Normalitas Data49
Tabel 11. Uji Homogenitas data49
Tabel 12. Nilai Signifikasi Analisis Statistik ANOVA50
Tabel 13. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) zona hambat terhadap konsentrasi50

DAFTAR GAMBAR

	JULINIA HILERONG TARANG HAI	aman
	alus acoroides (Seagrasswatch, 2015)	
	phylococcus aureus (Todar, 2005)	
Gambar 3. Loka	asi pengambilan sampel lamun	17
Gambar 4. Alur	Prosedur Penelitian	22
Gambar 5. Bagi	ian daun dan akar lamun yang diekstraksi	23
	ain penelitian daun dan lamun Enhalus acoroides terhadap eri Staphylococcus aureus	
Gambar 7. Hasi	il Uji Alkaloid (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun	35
Gambar 8. Hasi	il Uji Flavonoid (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamu	ın .36
Gambar 9. Hasi	il Uji Tanin (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun	37
Gambar 10. Has	sil Uji Steroid (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun	38
Gambar 11. Has	sil Uji Saponin (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamu	n38
dei koi	sil uji antbiakteri ekstrak etanol daun lamun <i>Enhalus acoroid</i> ngan masa inkubasi 1x24 jam. (a) konsentrasi 200 ppm (b) nsentrasi 400 ppm (c) konsentrasi 800 ppm (d) konsentrasi 1m dengan 3 kali pengulangan	1600
	afik diameter zona hambat ekstrak etanol daun <i>lamun Enhal</i> pengamatan 1x24 jam dan 2x24 jam	
dei koi	sil uji antbiakteri ekstrak etanol akar lamun <i>Enhalus acoroide</i> ngan masa inkubasi 1x24 jam. (A) konsentrasi 200 ppm (B) nsentrasi 400 ppm (C) konsentrasi 800 ppm (D) konsentrasi m dengan 3 kali pengulangan	1600
	afik diameter zona hambat ekstrak etanol akar lamun <i>Enhalu</i> oroides pada pengamatan 1x24 jam dan 2x24 jam	
	afik diameter zona hambat ekstrak etanol daun dan akar lam halus acoroides pada pengamatan 2x24 jam	
Gambar 17. Kor	ntrol positif Amoxilin terhadap bakteri Staphylococcus aureus	s47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Etanol 96% dan DMSO 10%	58
Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Lamun	59
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Media Tryptone Soya Agar (TSA)	61
Lampiran 4. Hasil Pengamatan Zona Bening	62
Lampiran 5. Uji ANOVA One Way	64
Lampiran 6. Alat dan Bahan yang digunakan pada saat penelitian	67
Lampiran 7. Dokumentasi Proses Uji Antibakteri	68



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antibiotik merupakan senyawa kimia yang dihasilkan oleh organisme (khususnya fungi) atau senyawa yang dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan bakteri dan organisme lainnya. Di antara kelompok antibiotik yang tersedia, zat antibakteri adalah kelompok yang paling banyak digunakan (Munaf, 1994 *dalam* Utami, 2011). Kegunaan antibiotik atau antibakteri antara lain untuk mengobati infeksi yang disebabkan bakteri, tetapi tidak jarang pengunaan antibiotik dapat menimbulkan beberapa efak samping.

Secara umum, pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik sintetis. Beberapa efek samping yang ditimbulkan berupa efek toksik dan reaksi alergi lainnya. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah diatas adalah dengan penggunaan antibiotik yang bersifat alami. Penggunaan obat dari bahan alam secara umum dinilai lebih aman dan memiliki efek samping yang relatif lebih kecil daripada penggunaan obat sintetis (Warbung et al., 2014). Oleh karena itu, eksplorasi tentang pencarian antibakteri baru yang bersifat alami yang berasal dari laut saat ini yang banyak untuk dikembangkan. Salah satu komoditas laut yang berpotensi sebagai antibakteri yang bersifat alami adalah lamun (Riniatsih dan Setyati, 2009).

Lamun (seagrass) merupakan tanaman berbunga (Angiospermae) yang mempunyai kemampuan beradaptasi untuk hidup dan tumbuh di lingkungan laut. Sepintas lamun terlihat seperti tanaman yang tidak memiliki arti, tetapi secara ekologis lamun memiliki peranan yang sangat penting di estuari dan lingkungan pesisir pantai dan juga penting dalam dunia farmasi. Pada umumnya lamun kaya akan sumber metabolit sekunder yang diyakini sebagai mekanisme pertahanan dari tanaman tersebut. Senyawa aktif yang terkandung di dalam tubuh lamun

memiliki banyak manfaat antara lain yaitu sebagai antibakteri (Kannan *et al.*, 2012), antikanker (Rumiantin, 2011), dan antioksidan (Santoso *et al.*, 2012).

Keragaman jenis lamun yang ada di Indonesia cukup tinggi, 12 jenis lamun telah ditemukan, salah satunya yaitu *Enhalus acoroides* yang merupakan dari family *Hydrocharitaceae* yaitu *Enhalus*. Lamun *Enhalus* hanya memiliki satu spesies. Lamun ini memiliki penyebaran yang luas, terutama di daerah tropis seperti Indonesia. Bentuk morfologi daun lamun *Enhalus acoroides* yang lebar, banyak dimanfaatkan oleh organisme di alam untuk menempel dan juga untuk makanan. Dalam kondisi tekanan alam berupa predasi dan persaingan tempat hidup tersebut *Enhalus acoroides* akan menghasilkan senyawa bioaktif (metabolit sekunder) sebagai bentuk pertahanan diri dari predator dan organisme lain. Daun *Enhalus acoroides* yang lebih besar, luas, dan tebal mampu menyimpan bahan bioaktif lebih banyak (Dewi, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Kannan et al., (2012) menunjukkan bahwa ekatrak lamun Enhalus acoroides dapat menghambat pertumbuhan bakteri Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosaa dan Serratia sp.. Beberapa penelitian lamun yang berasal dari Indonesia yang berpotensi sebagai antibakteri sudah banyak dilakukan. Hal tersebut ditunjukkan dengan diidentifikasi dengan adanya golongan senyawa aktif yang terkandung di dalam lamun.Lamun jenis Enhalus acoroides yang berasal dari Pulau Pramuka mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin, dimana senyawa tersebut berpotensi antibakteri (Dewi, 2013). Oleh karena itu, untuk mengetahui potensi lamun Enhalus acoroides yang berasal dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan sebagai antibakteri, dipilih Staphylococuus aureus sebagai bakteri uji.

Pada umumnya bakteri *Staphylococcus aureus* tersebut dikenal sebagai penyebab berbagai penyakit infeksi mulai dari infeksi kulit dan jaringan lunak yang sering terjadi di komunitas sampai penyakit infeksi yang bersifat serius bahkan

fatal (Santosaningsih *et al.*, 2011). Jenis bakteri ini dapat memproduksi racun yang dapat menyebabkan makanan tercemar dan mengakibatkan keracunan pada manusia (Badan Standarisasi Nasional, 2009). Bakteri *Staphylococcus aureus* juga dikenal sebagai MRSA *(Methicillin Resistant Staphylococcus aureus),* karena umumnya bakteri ini resisten terhadap antibiotik golongan methicillin (Afandi *et al.*, 2009).

Selain daun, bagian lamun yang lain seperti akar juga mempunyai manfaat sebagai obat. Mani *et al.*, (2012) menyatakan bahwa akar dari *Enhalus acoroides* dapat digunakan sebagai obat terhadap sengatan yang disebabkan oleh ikan pari dan kalajengking. Namun belum diketahui efektifitas dari bagian lamun (daun dan akar) yang dapat menghambat dari pertumbuhan bakteri uji, oleh karena itu perlu adanya penelitian. Penelitian ini juga dapat dijadikan referensi untuk penelitian lebih lanjut tentang manfaat bioaktif lamun dari spesies yang berbeda, khususnya di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Pemilihan antibiotik merupakan suatu kunci penting dalam pengobatan kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Penggunaan antibiotik dalam jumlah yang banyak dan penggunaannya yang salah diduga sebagai penyebab utama tingginya jumlah bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik. Beberapa efek samping lainnya yang ditimbulkan akibat penggunaan antibiotik sintetis dalam mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri dapat berupa efek toksik dan reaksi alergi lainnya (Amin, 2014), selain itu tidak semua mikroba ataupun bakteri yang diobati menggunakan antibakteri dapat rusak dengan menggunakan konsentrasi yang sama serta waktu pemaparan yang sama pula (Afandi et al., 2009). Pemberian konsentrasi yang berbeda dalam penggunaan antibakteri diduga dapat mengobati penyakit yang ditimbulkan. Alternatif yang

dapat dilakukan untuk mengurangi efek samping yang ditimbulkan. Salah satu organisme laut yang berpotensi sebagai antibakteri adalah lamun.

Kandungan senyawa aktif pada lamun yang dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah saponin, tannin, flavonoid, triterpenoid dan alkaloid. Senyawasenyawa tersebut dapat ditemukan pada bagian-bagian dari lamun seperti daun dan akar. Penelitian yang dilakukan oleh Qi et al., (2008) menyebutkan bahwa bagian lamun yaitu daun Enhalus acoroides dikoleksi dari Cina, diketahui mengandung golongan flavonoid dan steroid. Golongan senyawa aktif tersebut diketahui berpotensi sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri laut, seperti Staphylococcus aureus, Vibrio alginolyticus, dan Vibrio harveyi. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Ali et al., (2012) juga menyebutkan akar dari lamun jenis S. isoetifolium yang diambil dari India diidentifikasi mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, fenol, saponin dan tanin.

Untuk mendapatkan senyawa aktif pada lamun *Enhalus acoroides* perlu dilakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut, salah satunya yaitu menggunakan pelarut etanol. Etanol merupakan pelarut polar yang dapat mengekstraksi golongan senyawa tanin, flavonoid, terpenoid dan alkaloid (Tiwari *et al.*, 2011). Untuk mengetahui efektifitas dari organ lamun seperti daun dan akar yang berasal dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan sebagai antibakteri perlu dilakukan penelitian. Berdasarkan uraian diatas rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Apa saja golongan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun dan akar lamun Enhalus acoroides yang berasal dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan?
- 2. Bagaimana aktivitas antibakteri pada ekstrak daun dan akar lamun Enhalus acoroides yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus?

3. Apakah terdapat perbedaan zona hambat terhadap konsentrasi yang berbeda pada daun dan akar lamun?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides*.
- Mengetahui adanya aktivitas atau potensi antibakteri pada ekstrak daun dan akar lamun Enhalus acoroides yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus dengan melihat zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram.
- 3. Menganalisis perbedaan zona hambat terhadap konsentrasi yang berbeda pada daun dan akar lamun.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Akar Lamun Enhalus acoroides terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ini adalah :

- Hasil penelitian ini memberikan informasi mengenai peranan senyawa bioaktif dari bagian organ lamun Enhalus acoroides yaitu daun dan akar sebagai antibakteri.
- 2. Serta memberikan informasi mengenai manfaat ekosistem lamun khususnya kepada masyarakat pesisir Paciran, Kabupaten Lamongan.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lamun

2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi Lamun Enhalus acoroides

Lamun merupakan tumbuhan berbunga (Angiospermae) yang mempunyai kemampuan beradaptasi untuk hidup dan tumbuh di lingkunga laut. Seperti halnya tumbuhan yang ada di darat lamun secara morfologi diketahui mempunyai akar, batang, daun dan bunga, yang membedakan adalah sebagian besar lamun melakukan penyerbukan di dalam air. Tumbuhan ini terdiri dari daun, rhizome (rimpang), dan akar. Rhizoma merupakan batang yang terbenam dan memiliki ruas-ruas. Pada ruas-ruas rhizome tumbuh cabang-cabang berupa batang yang memiliki ukuran yang bervariasi. Batang yang tumbuh tegak ke atas ini muncul daun, bunga dan buah. Serta pada ruas-ruas rhizoma juga tumbuh akar yang dapat menancapkan diri dengan kokoh di dasar perairan hingga tahan terhadap hempasan ombak dan arus (Azkab, 2006).

Keragaman jenis lamun di Indonesia cukup banyak, ada 12 jenis yang telah ditemukan yaitu *Syringodium isoetifolium, Halophila ovalis, Halophila spinulosa, Halophila minor, Halophila decipiens, Halodule pinifolia, Halodule uninervis. Thalassodendron ciliatum, Cymodocea rotundata, Cymodocea serrulata, Thalassia hemprichii dan Enhalus acoroides.* Dari 12 genera yang ada, 7 genera merupakan penghuni perairan tropik, termasuk family *Hydrocharitaceae* yaitu *Enhalus, Thalassia, Halodule, Cymodocea dan Syringodium.* Lamun *Enhalus* hanya memiliki satu spesies, yaitu *Enhalus acoroides.* Lamun ini memiliki penyebaran yang luas, terutama di daerah tropis (Kiswara dan Hutomo, 1985).

Enhalus acoroides merupakan jenis lamun yang memiliki daun yang lebih tebal, lebar dan panjang dari pada spesies lamun lainnya. Lamun jenis ini memiliki variasi daun yang panjangnya (30-200 cm) dan lebar (1,2-2 cm). Rimpang dari

lamun ini tebal, dengan diameter sekitar 1,5 cm dan tertutupi oleh bulu yang tebal berwarna gelap. Lamun *Enhalus acoroides* memiliki perakaran yang kuat sehingga dapat berfungsi sebagai pengikat sedimen dan juga dapat menyerap nutrien yang terdapat di dalam substrat. Jenis lamun ini diklasifikasikan (Waycott *et al.*, 2004) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta (Angiospermae)

Class : Liliopsida

Sub-class: Alismatidae

Order : Alismatales

Family: Hydrocharitaceae

Genus : Enhalus

Spesies: Enhalus acoroides



RAMINAL

Gambar 1. Enhalus acoroides (Seagrasswatch, 2015)

2.1.2 Potensi Bioaktif Lamun

Lamun memilikan kandungan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan untuk bidang farmasi. Senyawa bioaktif merupakan senyawa yang di hasilkan oleh mahluk hidup yang berperan pada kelangsungan hidup suatu spesies misalnya sebagai senjata pertahanan diri. Senyawa aktif pada lamun dapat ditemukan pada beberapa organ lamun seperti daun dan akar lamun. Beberapa peneliti telah

melakukan pengujian senyawa-senyawa bioaktif dari lamun terhadap bakteribakteri pathogen (Tabel 1).

Tabel 1. Komponen senyawa-senyawa bioaktif pada lamun

Lamun	Senyawa- senyawa bioaktif	Manfaat	Sumber
Enhalus acoroides	flavonoid dan steroid (stigmasta- 4,22-dien-6β-ol-3-one, stigmasta-4,22-diene-3,6-dione, stigmasta-22-en-3-one, stigmasta-5,22-dien-3-O-β-D-glucopyranoside, daucosterol)	Sebagai antibakteri terhadap bakteri Staphylococcus aureus, Vibrio alginolyticus, dan Vibrio harveyi.	Qi et al., (2008)
Enhalus acoroides	Flavonoid (Hexadecanoic acid, methyl ester, n-Hexadecanoic acid, 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 9-Octadecanoic acid (Z) Methyl ester, Phytol, 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-, Octadecanoic acid) dan diterpenoid	Sebagai antibakteri terhadap bakteri P. mirabilis, P. aeruginosa, E. aerogens dan Serratia sp.	Kannan, <i>et al.</i> , (2010)
Cymodocea rotundata	seperti alkaloid, tannin, saponin dan terpenoid	Sebagai antibakteri terhadap bakteri pathogen <i>E. coli</i> dan <i>S.aureus</i> .	Mani <i>et al.</i> , (2012)
Syringodium isoetifolium	Alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, steroid dan tannin.	Sebagai obat demam berdarah dari nyamuk Aedes aegypti	Ali et al., (2012)

A. Daun Lamun Enhalus acoroides

Beberapa penelitian pada lamun telah dilakukan untuk mengetahui kandungan senywa aktif yang terdapat di dalam daun lamun. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada daun lamun *Enhalus acoroides* adalah fenol yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan (Kannan *et al.*, 2010). Daun lamun *Syringodium isoetifolium* mengandung senyawa aktif berupa alkaloid dan flavonoid yang digunakan sebagai antilarva nyamuk *Aedes aegypti* penyebab demam (Ali *et*

al.,2011). Aktivitas antibakteri dari lamun jenis *Enhalus acoroides* juga ditunjukkan dalam penelitian yang dilakukan oleh (Ismail *et al.*, 2012) terhadap bakteri *MRSA*, *MSSA*, *P. aeruginosa* dan *S. epidermidis*.

B. Akar Lamun Enhalus acoroides

Bagian organ lamun yang lain juga dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah akar lamun. Lamun *Enhalus acoroides* merupakan lamun yang hidup di perairan tropis, lamun jenis ini memiliki akar yang kuat dan diselimuti oleh benangbenang hitam. Akar dari *Enhalus acoroides* dapat digunakan sebagai obat terhadap sengatan yang disebabkan oleh ikan pari dan kalajengking (Mani *et al.*, 2012). Identifikasi senyawa aktif pada lamun jenis *Syringodium isoetifolium* dilakukan oleh (Ali *et al.*, 2012) bahwa ekstrak etanol akar lamun mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.

2.2 Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Senyawa metabolit sekunder dari lamun dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan tahap paling awal yang dilakukan untuk mengisolasi senyawa aktif yang terdapat pada organisme. Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan pelarut yang sesuai. Tahapan yang dilakukan pada saat proses ekstraksi, adalah penghancuran bahan, perendaman dengan pelarut, penyaringan dan pemisahan. Penghancuran bertujuan agar dapat mempermudah pengadukan, dan kontak bahan dengan pelarutnya pada saat proses perendaman. Bahan kemudian direndam dalam pelarut, seperti n-heksana (non polar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Proses perendaman ini disebut dengan *maserasi* (Dewi, 2013). Maserasi adalah suatu contoh metode ekstraksi padat-cair bertahap yang dilakukan dengan jalan membiarkan padatan terendam dalam suatu pelarut. Proses perendaman dalam

usaha mengekstraksi suatu substansi dari bahan alam ini bisa dilakukan tanpa pemanasan (pada suhu kamar) (Kristanti *et al.*, 2008).

Selama ekstraksi, pelarut yang digunakan proses maserasi tergantung dari sifat komponen yang akan diisolasi. Secara umum pelarut etanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses maserasi, karena pelarut ini hampir dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Darwis, 2000 dalam Oktavianus, 2013). Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah sifat polaritas bahan. Sifat polaritas bahan harus sama dengan polaritas pelarut agar bahan dapat larut. Pelarut yang paling sering digunakan adalah etanol, karena etanol dapat melarutkan senyawa aktif berupa terpenoid, saponin, tannin dan flavonoid yang aktif sebagai antibakteri (Tiwari et al., 2011). Tahap pemisahan terdiri dari penyaringan dan evaporasi. Untuk memisahkan pelarut dengan senyawa bioaktif yang terikat dilakukan evaporasi, sehingga pelarutnya akan menguap dan diperoleh senyawa hasil ekstraksi yang dihasilkan (Khopkar 2003 dalam Dewi, 2013).

Harborne (1987) menjelaskan bahwa hasil ekstrak yang diperoleh bergantung pada beberapa faktor, yaitu kondisi alamiah senyawa, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, lama waktu ekstrak, kondisi dan waktu penyimpanan dan perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel. Komponen aktif dari senyawa yang diekstrak sangat bergantung pada kepolaran pelarutnya. Etanol merupakan pelarut polar yang dapat menarik golongan senyawa aktif seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid dan tanin (Tiwari et al., 2011).

2.3 Kandungan Senyawa Aktif Lamun

Kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat pada lamun dapat diketahui dengan melakukan uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan uji yang

dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa organik yang dihasilkan oleh organime sebagai bentuk metabolit sekunder (Harborne, 1987). Senyawa bioaktif pada lamun antara lain berupa alkaloid, steroid, saponin, tannin dan flavonoid yang aktif sebagai antibakteri bakteri, dimana senyawa ini mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri (Tiwari *et al.*, 2011).

2.3.1 Senyawa Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Alkaloida yang dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang. Alkaloida umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil kurang dari 1% dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan (Kristanti et al., 2008).

Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sitem siklik. Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat tropis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (missal nikotina pada suhu kamar). Alkaloid merupakan turunan yang paling umum dari asam amino. Secara kimia, alkaloid merupakan suatu golongan heterogen (Harborne 1987).

2.3.2 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa flavonoid ini merupakan zat warna merah, ungu,biru dan sebagian zat warna kuningyang terdapat dalam tanaman. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbahan sendiri adalah sebagai zat pengatur tubuh, pengatur proses ftosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus dan

antiinsektisida. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk susunan C₆-C₃-C₆ (Kristanti *et al.*, 2008). Harborne (1987) menyatakan golongan senyawa flavonoid terdiri dari sepuluh kelas, yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavanol, khalkon, auron, flavonon dan isoflavon.

2.3.3 Senyawa Steroid

Steroid dapat diklasifikasikan menjadi steroid dengan atom karbon tidak lebih dari 21, seperti sterol, sapogenin, glikosida jantung, dan vitamin D (Harborne 1987). Glikosida jantung yang terdapat dalam tubuh tumbuhan sejak zaman prasejarah digunakan sebagai racun. Selain itu keberadaan senyawa ini dalam tubuh tumbuhan mungkin memberi perlindungan kepada tumbuhan dari gangguan beberapa serangga tertentu. Steroid adalah kelompok senyawa bahan alam yang kebanyakan strukturnya terdiri atas 17 atom karbon dengan membentuk struktur dasar 1,2-siklopentenoperhidrofanentren (Kristanti *et al.*, 2008).

2.3.4 Senyawa Saponin

Saponin adalah senyawa yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air (karena sifatnya yang menyerupai sabun, maka dinamakan saponin). Pada konsentrasi yang rendah saponin dapat menyebabkan hemolysis sel darah merah. Dalam bentuk larutan yang sangat encar, saponin sangat beracun untuk ikan (Kristanti *et al.*, 2008).

Saponin dapat menimbulkan rasa pahit pada bahan pangan nabati. Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukurona. Pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak tumbuhan merupakan bukti terpercaya akan

adanya saponin. Saponin jauh lebih polar daripada sapogenin karena ikatan glikosidanya (Harborne, 1987).

2.3.5 Senyawa Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dengan protein. Senyawa ini terdapat pada berjenis-jenis tanaman yang digunakan baik untuk bahan pangan maupun pakan ternak. Tanin dapat menghambat aktivitas beberapa enzim pencernaan seperti tripsin, kimotripsin, amilase dan lipase (Muchtadi, 1989 *dalam* Arifuddin, 2013). Tanin banyak terdapat pada tumbuhan yang berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Di dalam tubuh tumbuhan letak tannin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma (Harborne, 1987).

2.4 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Senyawa Aktif

Faktor lingkungan yang mempengaruhi kandungan senyawa aktif pada lamun yaitu suhu, radiasi cahaya, udara (terutama oksigen, karbondioksida dan uap air) dan salinitas. Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif, yaitu : pH 7,0, sifat air dan kondisi biotik dan keberadaan bahan kimia di perairan yang merupakan kontaminan yang secara aktif dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif (Akhila, 2007 *dalam* Nurfadila, 2013).

Lamun akan mengeluarkan metabolit sekunder lebih banyak jika kondisi lingkungannya buruk. Besarnya senyawa yang dihasilkan bergantung pada seberapa besar gangguan yang dihasilkan dari lingkungan tersebut yang tidak dapat ditoleransi oleh lamun *Enhalus acoroides*. Ada kecenderungan semakin besar gangguan biotik dan abiotik di lingkungan organisme tersebut hidup, maka semakin tinggi produksi dan bioaktifitas metabolit sekunder yang dihasilkan (Oktavianus, 2013).

2.4.1 Salinitas

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid memainkan peran penting untuk melindungi mangrove dari cekaman garam (Oku et al., 2003 dalam Oktavianus, 2013). Berdasarkan uraian tersebut lamun juga tanaman yang hidup di perairan yang mengandung salinitas, sehingga memicu beberapa senyawa metabolit sekunder seperti triterpenoid bereaksi sebagai bentuk pertahanan lamun terhadap kondisi lingkungannya. Dalam kondisi cekaman garam, tanaman daoat mengubah tingkat metabolit sekunder seperti triterpenoid atau senyawa fenolik untuk meningkatkan sistem pertahanan mereka terhadap kondisi lingkungan menguntungkan.

2.4.2 Oksigen terlarut (DO)

Kandungan oksigen terlarut (DO) pada perairan menjadikan terjadinya kompetisi akan kebutuhan oksigen antara lamun dan organisme-organisme perairan dan vegetasi perairan sekitarnya. Lamun akan melakukan bentuk adaptasi dengan memanfaatkan kandung senyawa bioaktif metabolit adaptasi dengan memanfaatkan kandung senyawa bioaktif metabolit sekunder dalam memperoleh oksigen dari competitor pada lingkungan perairan.. Senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid melakukan aktivitas antioksidan dengan cara menekan pembentukan spesies oksigen reaktif terhadap organisme lain (Harborne, 1987). Kelarutan oksigen juga sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor terutama suhu.

2.4.3 Derajad Keasaman (pH)

Kisaran pH air 6-8 masih dikatakan normal, Yan et al., (2010) dalam Oktavianus (2013) mengemukakan bahwa penurunan pH akan menyebabkan toksisitas logam berat menjadi semkain besar dimana sebagian besar biota akuatik sensitive terhadap perubahan yang sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan. Beberapa senyawa metabolit sekunder memiliki kemampuan

dalam mentolerir logam pada perairan, sejumlah senyawa flavonoid efisien dalam mengikat, diantara logam besi bebas dan tembaga bebas (Harbonee, 1987).

2.5 Uji Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Berdasakan mekanisme kerjanya antibakteri dibedakan menjadi 2 yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, menghambat sintesisi protein, dan menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen) (Brooks *et al.*, 2005).

Untuk mengetahui efek antibakteri secara *in vitro* dapat dilakukan dengan berbagai cara salah satunya yaitu metode caktram (disk diffusion method). Metode cakram adalah metode yang paling sering digunakan karena mudah dilakukan, praktis, cukup teliti dan seringkali sesuai dengan fasilitas yang ada di dalam laboratorium. Prinsip metode ini adalah kertas cakram dengan ukuran diameter tertentu dibasahi dengan larutan uji (larutan yang akan diuji antibaterinya), kemudian diletakkan diatas media agar yang sudah memadat dan permukaannya yang sudah ditumbuhkan biakan bakteri uji. Media agar kemudian diinkubasi selama 24 jam. Jika larutan dapat menghambat pertumbuhan bakteri, maka akan terlihat adanya daerah jernih di sekeliling kertas cakram. Luas daerah bening/jernih berkaitan dengan kecepatan berdifusi larutan uji dalam medium dan merupakan petunjuk kepekaan mikroorganisme terhadap larutan uji tersebut, serta menjadi ukuran kekuatan daya kerja larutan dengan aktivitas antibakteri (Kristanti *et al.*, 2008).

2.6 Bakteri Uji

2.6.1 Stapylococcus aureus

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2µm, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Gambar 2). Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C (Kusuma, 2009). Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang memiliki hanya satu dinding sel sehingga senyawa yang bersifat sebagai antibakteri akan lebih mudah untuk merusak dinding sel bakteri ini (Nurfadillah, 2013). Bakteri Staphylococcus aureus sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia dan dapan menghasilkan enterotoksin yang seringkali menjadi penyebab keracunan pada makanan dan minuman (Radji et al., 2008).

Bakteri *Staphylococcus aureus* diklasifikasikan (Todar, 2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokariota

Divisi : Firmicutes

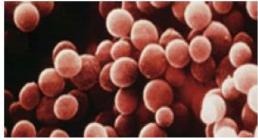
Kelas : Bacili

Ordo : Bacillales

Family: Micrococcaceae

Genus : Staphyloccocus

Spesies : Staphylococcus aureus



Gambar 2. Staphylococcus aureus (Todar, 2005)

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari - Mei 2015 yang diawali dengan pembuatan proposal penilitian yang dilakukan pada bulan Februari, kemudian kegiatan pengambilan sampel di lapang yaitu di Pantai Paciran, Kabupaten Lamongan pada tanggal 1 Maret 2015 (Gambar 3), karena belum ada penelitian mengenai potensi lamun yang terdapat di Pantai Paciran. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Uji fitokimia dan pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Malang.



Gambar 3. Lokasi pengambilan sampel lamun

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat yang digunakan dalam pengambilan sampel lamun di lapang dan proses uji antibakteri di laboratorium. Pengukuran parameter *insitu* seperti pengukuran suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan salinitas menggunakan alat pengukuran parameter modern yang didapat dari Laboratorium Ilmu Kelautan FPIK UB. Berikut alat yang digunakan selama penelitian di lapang dan di laboratorium, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Alat yang digunakan dalam penelitian uji antibakteri.

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	Autoklaf	Tomy ES-315	Proses sterilisasi basah pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm atau 0,15 Mpa selama 15 menit.
2	Beaker Glass	Iwaki Pyrex (500 ml)	Tempat maserasi
3	Blender	Miyako	Menghaluskan lamun
4	Botol vial	Amoxan (10ml)	Tempat ekstrak lamun
5	Bunsen	PULL HARD	Pengkondisian aseptis
6	Cawan Petri	Anumbra	Tempat menumbuhkan dan membiakkan bakteri
7	Corong	Herma	Membantu proses filtrasi
8	Cotton Swab	は、一人のこれが、	Menginokulasikan bakteri
9	Erlenmeyer	Iwaki Pyrex (1000 ml)	Tempat pembuatan media
10	Gelas ukur	Herma (10 ml)	Mengukur volume larutan
11	Gunting	Gundo	Memotong sampel lamun
12	Inkubator	MMM Med-Center	Menginkubasi media pada suhu 37°C
13	Jangka Sorong	-	Untuk mengukur diameter zona hambat.
14	Jarum Ose	Steinless	Mengambil bakteri.
15	Kompor	Maspion S-302	Memanaskan media NA
16	Kulkas	Toshiba GR-R66ED	Menyimpan ekstrak lamun
17	Laminar Air Flow	NUAIRE	Isolasi bakteri
18	Mikropipet	D. JAINING	Untuk mengambil larutan dengan jumlah 0,1 ml
19	Oven	Mammer (0-200°C)	Mengeringkan lamun
20	Panci	ATTIVE STATE	Dekstruksi cawan petri

Tabel 2. Lanjutan

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
21	Pinset	KTUER	Mengambil kertas cakram dalam kondisi aseptis
22	Rotary Evaporator	IKA RV10	Memisahkan ekstrak dengan pelarutnya
23	Sendok bahan		Mengambl media dalam bentuk serbuk dan ekstrak lamun
24	Spatula		Menghomogenkan larutan.
25	Tabung Reaksi	Iwaki Pyrex	Tempat bakteri uji dan larutan pengencer
26	Timbangan Digital	Mettler Toledo AB204-S	Menimbang sampel lamun dengan ketelitian 10 ⁻²
27	Vortex mixer	Maxi Mix II Type- 37600	Menghomogenkan larutan pada tabung reaksi
28	DO meter	-	Mengukur kandungan oksigen terlarut di perairan
29	Salinometer		Mengukur salinitas di perairan
30	pH meter		Mengukur kadar pH di perairan
31	GPS		Menentukan koordinat tempat pengambilan sampel lamun
32	Plastik besar	4 63 (87 18) 63	Wadah dari sampel lamun

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi penggunaan bahan di lapang dan laboratorium yang dilaksanakan di dua tempat yakni Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) dan Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Univeritas Brawijaya, Malang. Berikut bahan yang digunakan selama penelitian di lapang dan di laboratorium, dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Bahan yang digunakan dalam penelitian uji antibakteri.

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1	Lamun Enhalus acoroides	250 gr (daun kering) dan 250 gr (akar kering)	Bahan yang di uji kandungan bioaktifnya
2	Etanol	Pro Analys (p.a)	Sebagai pelarut polar dan kontrol negatif
3	Asam sulfat 2N	SILAYAVA	Uji alkaloid dan molisch
4	Dragendof	SAWUSTIA	Uji alkaloid

Tabel 3. Lanjutan

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
5	Ethanol 95 %	4169-	Uji flavonoid
6	Magnesium		Uji flavonoid
7	Sulphuric acid	Pro Analys (p.a)	Uji flavonoid
8	Kloroform	AP. HMIY	Uji steroid
9	Asam sulfur		Uji steroid
10	FeCl ₃		uji tanin
11	HCL 2N	-	Uji Saponin
12	Alkohol	70%	Pengkondisian aseptis.
13	Aluminium Foil	-	Pembungkus alat.
14	Aquades	Hydrobat	Pelarut pada pembuatan media
15	Bakteri Staphylococcus aureus	ITAS B	Bakteri uji
16	Kapas	One Med	Menutup alat agar tidak terkontaminasi.
17	Kertas Cakram Oxoid	EX () EX	Bahan yang diukur diameter zona hambatnya
18	Kertas Label		Penanda
19	Amoxilin	0,02 gr	Kontrol positif
20	Larutan McFarlan		Kepadatan bakteri uji
21	NaCl 0,9 %	ゴート//数】	Larutan pengencer
22	Tryptone Soya Agar (TSA)	Merk	Media uji antibakteri
23	Tali	Angsa	Mengikat alat saat sterilisasi
24	Tissue	Royal	Mengeringkan alat-alat yang basah.
25	Kristal Ungu		Pewarna ungu (primer) pada proses pewarnaan gram.
26	Iodium		Penguat warna ugu pada proses pewarnaan gram.
27	Safranin		Pewarna merah (sekunder) pada proses pewarnaan gram.

3.3 Metode Penelitian

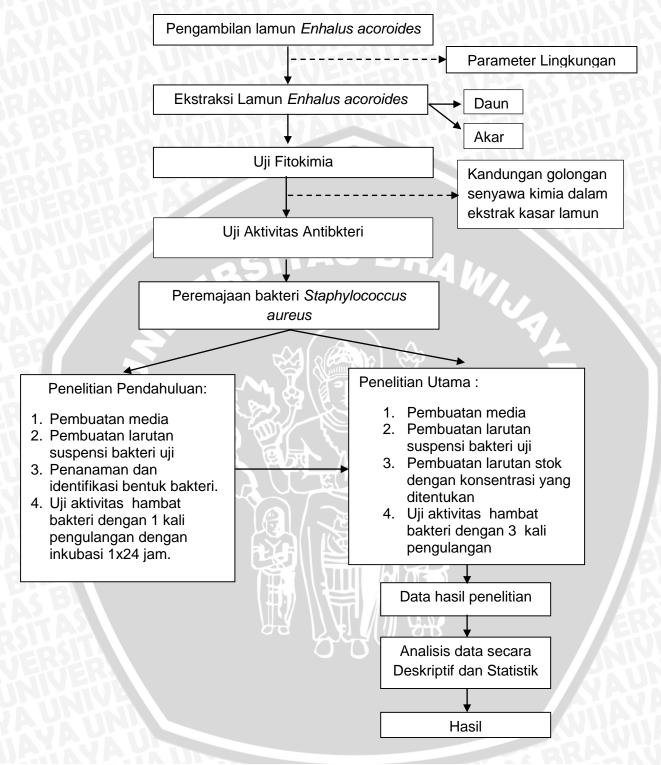
Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Metode eksperimen digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap perlakuan yang lain dengan kondisi terkontrol. Metode eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap faktor lain dalam kondisi yang dikendalikan. Metode eksperimen biasanya diterapkan di dalam laboratorium dan terdapat perlakuan (*treatment*)

tertentu (Sugiyono, 2014). Metode eksperimen dilakukan untuk mengetahui sebab dan akibat dua variabel atau lebih dengan mengendalikan pengaruh dari variabel lain. Metode ini dilakukan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja kepada objek penelitian secara sengaja pada objek penelitian untuk diketahui akibatnya dalam variabel terikat

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* dengan konsentrasi berbeda (200 ppm, 400 ppm, 800 pmm, dan 1600 ppm). Variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan diameter zona hambat antibakteri yang terlihat sebagai zona hambat di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm.

3.4 Prosedur Penelitian

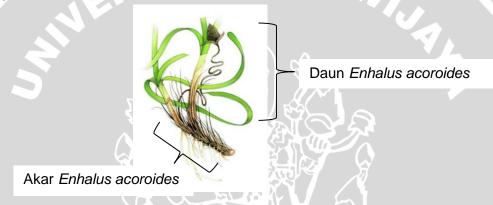
Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan dimulai dari proses pengambilan sampel di lapang, kemudian dilanjutkan dengan pengujian di laboratorium antara lain proses sterilisasi alat dan bahan, ekstraksi, peremajaan bakteri, uji fitokimia, dan uji aktivitas bakteri. Diagram alir prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 4 berikut ini:



Gambar 4. Alur Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel Lamun di Lapang

Sampel lamun segar diambil di perairan Pantai Paciran, Kabupaten Lamongan. Daun dan akar lamun yang diambil berasal dari satu rhizome yang sama (Gambar 5.) Sampel dimasukkan ke dalam plastik polyethylen selama transportasi menuju laboratorium. Pada saat pengambilan sampel lamun dilakukan pengambilan data parameter lingkungan. Data parameter lingkungan diambil secara *insitu* meliputi salinitas, yang diukur menggunakan salinometer, pH air laut di ukur dengan menggunakan pH meter serta suhu perairan dan DO diukur menggunakan DO meter.



Gambar 5. Bagian daun dan akar lamun yang diekstraksi

3.4.2 Ekstraksi Lamun Enhalus acoroides

Proses ekstraksi daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* dimulai dengan mencuci bersih lamun dengan tujuan menghilangkan kotoran, epifit dan lumpur yang melekat pada daun dan akar lamun, selanjutnya lamun dijemur dibawah sinar matahari selama 3 hari. Setelah kering lamun dipotong kecil-kecil hari dengan memisahkan antara daun dan akar lamun. Lamun yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga didapatkan serbuk halus daun lamun (Ismail *et al.*, 2012). Proses ektraksi daun lamun (*E. acoroides*) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut organik etanol 96% (Juwita *et al.*, 2013). Sampel lamun sebanyak 50 gr dimasukan kedalam beaker glass (1000 ml), kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 750ml, selanjutnya dimaserasi selama

1x24 jam pada suhu ruang pada kondisi gelap. Hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring dan dipekatkan menggunakan vakum *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak yang diperoleh dimasukan ke dalam botol vial dan disimpan di dalam kulkas pada suhu 4°C sampai digunakan untuk analisis (Ismail *et al.*, 2012).

3.4.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak lamun *Enhalus acoroides*. Langkah-lagkah uji fitokimia menggunakan metode Harborne (1987) adalah sebagai berikut:

1. Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilakukan penambahan H₂SO₄, kemudian diuji pereaksi alkaloid yaitu dragendroft. Uji ini positif jika terbentuk, endapan coklat pada sampel yang ditambahkan pereaksi dragendorf.

2. Uji Flavonoid

Sampel sebanyak 5 ml ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,05 mg, kemudian ditambahkan larutan amil alkohol sebanyak 0,4 m, selanjutnya ditambahkan larutan alkohol 4 ml dan dikocok. Hasil uji flavonoid positif bila terbentuk larutan berwarna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.

3. Uji Saponin

Sampel sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan dan dikocok. Jika muncul busa dan hingga 30 menit, maka uji dilanjutkan dengan menambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes. Hasil uji saponin positif ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil.

4. Uji Tanin

Sampel sebanyak 5 ml diseduh dengan air panas yang telah dididihkan selama 3 menit. Sampel tersebut disaring setelah itu ditetesi dengan FeCl₃ 1%. Hasil uji positif jika larutan berwarna biru tua atau hijau kehitaman.

5. Uji Steroid

Sampel sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan dalam 2ml kloroform, kemudia ditambahkan 3 tetes asam sulfat pekat. Uji steroid positif jika larutan yang dihasilkan membentuk warna merah di awal kemudian berubah menjadi biru atau hijau di akhir pengujian.

3.4.4 Skema Uji Antibakteri dengan Metode Cakram

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dilakukan untuk mencegah kontaminasi saat penelitian dilakukan. Sterilisasi dilakukan dengan metode sterilisasi basah yaitu menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm atau 0,15 Mpa selama 15 menit.

2. Pembuatan Media agar

Pembuatan media agar dilakukan dengan memasukkan TSA (*Tryptone Soya Agar*) sebanyak 8 gr ke dalam erlenmeyer, lalu ditambahkan aquades 200 ml aquades. Campuran dipanaskan diatas kompor hingga mendidih. TSA yang sudah homogen dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

3. Peremajaan Bakteri dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Peremajaan bakteri merupakan tahap penambahan bakteri dalam agar miring. Hal yang perlu diperhatikan pada proses peremajaan bakteri adalah fase pertumbuhan bakteri. Secara umum bakteri memiliki empat fase, yaitu fase

penyesuaian (fase lag), fase pertumbuhan seimbang (fase Eksponensial), fase stasioner dan fase kematian. Pada proses peremajaan bakteri fase eksponensial perlu diperhatikan, karena fase ini merupakan fase dimana bakteri memperbanyak diri sehingga jumlah sel semakin lama semakin banyak (Hadiwiyoto, 1993). Peremajaan bakteri menggunakan media TSA (*Tryptone Soya Agar*) sebagai berikut:

- 1. Media TSA dilarutkan dalam akuades dan dipanaskan hingga larut sempurna,
- 2. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 mL dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.
- 3. Tabung dimiringkan dan didiamkan hingga memadat.
- 4. Sejumlah 1 ose biakan bakteri diinokulasi ke dalam media regenerasi kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Kultur bakteri dilakukan dengan mengambil beberapa koloni bakteri hasil peremajaan. Beberapa koloni bakteri tersebut dipindahkan dengan menggoreskan jarum ose dari agar miring ke dalam larutan fisiologis NaCl 0.9 % steril sebanyak 5 ml kemudian dihomogenkan dengan vortex (Ningtyas, 2013). Kultur bakteri dibandingkan dengan tingkat kekeruhan reagen Mc farlan's Barium Sulfat yang setara dengan ± 10⁵ sel bakteri untuk mengetahui kepadatannya (Buchanan dan Gibbons 1984, Dwijoseputro, 1998 *dalam* Trianto *et al.*, 2004). Larutan baku McFarland terdiri atas dua komponen, yaitu larutan BaCl2 1% dan H2SO4 1%. Larutan BaCl2 1% sebanyak 0,05 ml dicampur dengan larutan H2SO4 1% sebanyak 9,95 ml dan dikocok homogen. Larutan baku McFarland 0,5 ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi 1,5 x 10⁵ CFU/ml (Warbung, 2014).

4. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak dengan konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm. Konsentrasi ekstrak lamun *Enhalus acoroides* 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm, masing-masing didapat dengat melarutkan ekstrak lamun dengan menggunakan DMSO 10%. DMSO merupakan bahan alami dari serat kayu dan tidak berbahaya. Larutan DMSO berfungsi sebagai pelarut yang cepat meresap ke dalam epitel ekstrak tanpa merusak sel-sel tersebut dan juga sering digunakan dalam bidang kedokteran dan kesehatan (Alfath *et al*, 2013).

5. Proses Uji Antibakteri

Proses Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode cakram dengan kertas cakram dilakukan oleh (Nurfadillah, 2013) adalah sebagai berikut:

- Bakteri uji dari larutan kultur diinokulasikan dengan cotton swab di atas media TSA (Tryptone Soya Agar).
- 2. Ekstrak lamun dengan konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm, dan 1600 ppm di masukkan pada kertas cakram dengan cara direndam, untuk kontrol negatif digunakan pelarut etanol yang sama pada saat perendaman sampel lamun hal ini dilakukan untuk membuktikan bahwa pelarut yang digunakan tidak memberikan pengaruh sebagai antibakteri pada bakteri patogen dan kontrol positif yang digunakan yaitu amoxilin (200 ppm) yang bersifat sebagai antibakteri.
- 3. Kertas cakram yang berdiameter 6 mm diletakkan secara aseptik di atas media agar, yang kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam dan dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambatan yang terbentuk di sekitar kertas cakram.

5. Pengukuran Zona Hambat

Aktivitas antibakteri suatu ekstrak ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas caktram. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Besarnya zona hambat adalah diameter zona hambat dikurangi 6 mm (diameter kertas cakram) (Trianto et al., 2004).

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rancangan acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan 2 faktor yaitu faktor a : organ lamun (akar dan daun lamun) dan faktor b : Konsentrasi ekstrak (200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 600 ppm) Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogeny, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium dan mengetahui adaya interaksi antara faktor a dengan faktor b. Model penelitian RALF ditunjukkan pada Tabel 4 dan rumus model untuk RALF adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \in_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke-i

€_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-l dan ulangan ke-j

i = konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm

j = ulangan 1,2,3

Tabel 4. Model Rancangan Penelitian

Perlakuan		Ulangan		
Organ Lamun	Konsentrasi Ekstrak	a	b	С
A	1	A1a	A1b	A1c
	2	A2a	A2b	A2c
	3	A3a	A3b	A3c
	4	A4a	A4b	A4c
FIAS	1	B1a	B1b	B1c
	2	B2a	B2b	B2c
	3	ВЗа	B3b	ВЗс
	4	B4a	B4b	B4c

Keterangan:

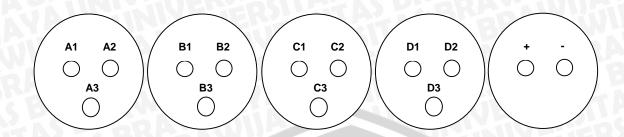
Faktor A (Konsentrasi): A. Daun lamun, B: Akar lamun

Faktor B (Organ) : 1. 200 ppm, 2. 400 ppm, 3. 800 ppm, 4 1600 ppm

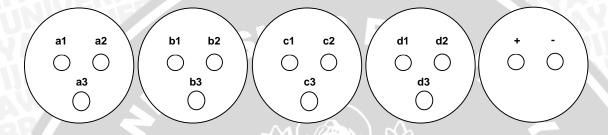
Ullangan : a. Ulangan 1, b : Ulangan 2, c: Ulangan 3

Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan konsentrasi ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dirancang dengan desain, seperti Gambar 6 untuk daun dan akar lamun terhadap bakteri. Setiap cawan berisi 6 kertas cakram dengan diameter 6mm. Setiap kertas cakram direndam dengan 6 larutan yaitu amoxilin (200ppm) sebagai kontrol positif dengan kode (+), etanol sebagai kontrol negatif dengan kode (-), ekstrak daun lamun dengan konsentrasi 200 ppm dengan kode (a), 400 ppm dengan kode (b), 800 ppm dengan kode (c), 1600 ppm dengan kode (d), dan ekstrak akar lamun dengan konsentrasi 200 ppm dengan kode (A), 400 ppm dengan kode (B), 800 ppm dengan kode (C), 1600 ppm dengan kode (D).

Lamun yang digunakan adalah spesies *Enhalus acoroides* yang terdiri dari daun lamun *Enhalus acoroides* dan akar lamun lamun *Enhalus acoroides*. Bakteri yang digunakan terdiri dari *Staphylococcus aureus* (Sa). Pada penelitian ini dilakukan 3 kali pengulangan.



Akar lamun dan Staphylococcus aureus (Sa) untuk 3x pengulangan



Daun lamun dan Staphylococcus aureus (Sa) untuk 3x pengulangan

Gambar 6. Desain penelitian daun dan lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa parameter lingkungan dan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak dianalisis secara deskriptif. Perbedaan kemampuan aktivitas antibakteri dari daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (berdasarkan zona hambat) dianalisis menggunakan ANOVA (*Analisys Of Variance*), jika terdapat perbedaan pengaruh konsentrasi serta antara daun dan akar terhadap bakteri uji dilakukan uji BNT (Beda Nyata terkecil) menggunakan *software* SPSS 16.0.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keterkaitan Antara Parameter Lingkungan dengan Senyawa Metabolit Sekunder Lamun *Enhalus acoroides*.

Parameter lingkungan yang diukur untuk mengetahui kondisi lingkungan hidup lamun. Hasil pengukuran parameter lingkungan secara insitu di Perairan Paciran pada saat pengambilan sampel lamun dapat dilihat padaa Tabel 5.

Tabel 5. Nilai parameter lingkungan di perairan Paciran, Kabupaten Lamongan

Lokasi	Parameter			
Paciran	Suhu (°C)	DO (mg/L)	Salinitas (‰)	pН
	31,8 ±0,61	5,3±0,30	30,6±0,51	7,72±0,59
Baku Mutu (KEPMEN NO. 51 TAHUN 2004)	28-30	>5	33-34	7-8,5

4.1.1 Suhu

Kondisi lingkungan perairan dapat mempengaruhi produktivitas lamun *Enhalus acoroides* dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai bentuk adaptasi terhadap kondisi lingkungannya, sehingga dapat menyebabkan kemampuan suatu ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Semua jenis lamun dapat tumbuh di bawah dan di atas pada tingkat temperatur yang normal (McMILLAN 1978; THAYER *et al.* 1975 *dalam* Azkab 1999). Suhu perairan Paciran pada saat pengambilan sampel adalah 31,8°C (Tabel 5), nilai suhu melebihi ambang batas baku mutu untuk biota yang telah di tetapkan dalam KEPMEN No. 51 Tahun 2004 yaitu kisaran suhu optimal bagi spesies lamun adalah 28° sampai 30°C.

Tumbuhan lamun yang hidup di daerah tropis umumnya tumbuh pada daerah dengan kisaran suhu air antara 20°-30°C, sedangkan suhu optimumnya adalah 28°- 30°C. Lamun jenis *Enhalus acoroides* acoroides merupakan jenis lamun yang hidup diderah tropis, sehingga lamun jenis ini memiliki toleransi yang cukup tinggi terhadap perubahan suhu (Kordi, 2011). Naiknya suhu perairan juga

dapat mempengaruhi parameter kualitas air lainnya seperti salinitas, oksigen terlarut dan pH perairan.

4.1.2 Salinitas

Salinitas perairan Paciran pada saat pengambilan sampel adalah 30,6‰, nilai ini berada di bawah ambang batas baku mutu untuk biota yang telah di tetapkan dalam KEPMEN No. 51 Tahun 2004 yaitu Kisaran salinitas optimal bagi spesies lamun adalah 33-34‰. Toleransi lamun terhadap salinitas sangat bervariasi di antara spesies. Di daerah tropis beberapa jenis lamun memiliki daya toleransi yang sangat luas terhadap perubahan salinitas. Beberapa spesies lamun yang hidup di perairan tropis yaitu *Enhalus, Syringodium, Halodule dan Thalassia* (Kordi, 2011). Spesies *Halodule* memiliki tingkat resisten lebih tinggi terhadap salinitas dibandingkan dengan spesies lainnya, karena *Halodule* pada daerah tropik dapat tumbuh pada salinitas 3,5-60 ‰ (McMillan dan Moseley (1967) *dalam* Azkab 1999).

Bentuk toleransi lamun terhadap perubahan salinitas adalah dengan mengeluarkan senyawa metabolit sekunder. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa senyawa triterpenoid memainkan peran penting terhadap perubahan salinitas untuk melindungi mangrove dari tekanan garam atau salinitas (Oku *et al.*, 2003 *dalam* Oktavianus, 2013). Berdasarkan penelitian tersebut lamun juga merupakan organisme yang hidup di perairan yang mengandung salinitas, sehingga lamun juga dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti treterpenoid sebagai bentuk pertahanan diri terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan.

4.1.3 Derajad Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) perairan Paciran pada saat pengambilan sampel adalah 7,72, nilai ini diantara ambang batas baku mutu untuk biota yang telah di tetapkan dalam KEPMEN No. 51 Tahun 2004 yaitu kisaran pH optimal bagi spesies lamun adalah 7-8,5. Penurunan nilai pH dapat disebabkan oleh banyaknya buangan limbah dari aktivitas penduduk di sekitar tempat pengambilan sampel. Bentuk adaptasi yang dilakukan oleh lamun terhadap perubahan pH perairan salah satunya yaitu memproduksi senywa aktif golongan flavonoid (Harborne, 1987).

4.1.4 Oksigen Terlarut (DO)

Dissolved Oxygen (DO) atau kandungan oksigen terlarut perairan Paciran pada saat pengambilan sampel adalah 5,3 mg/L, kondisi ini tergolong baik bagi pertumbuhan lamun. Hal ini karena lamun akan tumbuh dan berkembang dengan baik pada perairan dengan kisan DO >5 mg/L (KEPMEN No. 51 Tahun 2004). Kandungan oksigen terlarut merupakan kebutuhan yang vital dibutuhkan oleh semua organisme akuatik. Kandungan oksigen (DO) di perairan menyebabkan terjadinya kompetisi di antara organisme untuk memenuhi kebutuhan oksigennya. Lamun akan melakukan bentuk adaptasi dengan memanfaatkan senyawa aktif golongan flavonoid untuk melakukan aktivitas antioksidan (Harborne, 1987).

4.2 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Daun dan Akar Lamun *Enhalus acoroides*

Kandungan senyawa aktif pada ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus* acoroides dengan menggunakan pelarut etanol 96% dapat diketahui melalui uji fitokimia. Senyawa fitokimia yang di uji yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, tanin dan saponin. Hasil pengujian kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kandungan senyawa fitokimia Ekstrak *Enhalus acoroides* dengan pelarut etanol 96%.

IIII Fitalimia	Ekstrak Enhalus acoroides		
Uji Fitokimia	Daun	Akar	
Alkaloid	++	+ + 1	
Flavonoid	JA U++ MIV	+	
Tanin	++	+	
Saponin	+		
Steroid	++	+	

Keterangan: (++) Ada (kuat) (+) Ada (sedang) (-) Tidak ada (Ali et al.,2012)

Pada penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun lamun *Enhalus* acoroides mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin. Sedangkan pada ekstrak akar lamun senyawa golongan saponin tidak ditemukan. Golongan senyawa aktif saponin pada akar lamun menunjukkan hasil negatif atau tidak ada. Hal serupa ditunjukkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Ali *et al.*, (2012) pada spesies lamun *Cymodocea serrulata* dan *Halopila beccarii* golongan senyawa saponin yang diidentifikasi dari kedua lamun tersebut juga tidak ada.

Sapogenin atau yang lebih dikenal dengan saponin merupakan senyawa yang dapat meninmbulkan busa jika dikocok dalam air. Saponin adalah salah satu turunan dari senyawa golongan steroid yang dikelompokkan berdasarkan efek fisiologis yang ditimbulkan. Steroid yang terdapat di alam berasal dari triterpenoid. Steroid yang terdapat pada tumbuhan berasal dari sikloartenol setelah mengalami serangkaian perubahan (Kristanti *et al.*, 2008). Senyawa golongan ini diproduksi oleh suatu organisme sebagai bentuk pertahanan diri terhadap lingkungan yang kurang menguntukan khususnya perubahan salinitas (Oku *et al.*, 2003 *dalam* Oktavianus, 2013).

1. Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan larutan dragendroff. Pada uji larutan dragendroff, ekstrak daun dan akar lamun akan membentuk endapan berwarna coklat muda sampai kuning. Hasil pada ekstrak daun memperlihatkan

hasil yang positif kuat (Gambar 7a), sedangkan pada akar hasilnya positif lemah (Gambar 7b). Marliana *et al.*, (2005) menyatakan bahwa hasil positif alkalioda pada uji dragendroff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut merupakan kalium alkaloid.



Gambar 7. Hasil Uji Alkaloid (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun

2. Flavonoid

Uji flavonoid menunjukkan hasil positif dengan adanya warna hijau pada ekstrak daun dan akar lamun. Untuk ekstrak daun lamun memiliki hasil yang positif kuat (Gambar 8a) dan ekstrak akar lamun memiliki hasil yang positif lemah (Gambar 8b). Pada uji flavonoid warna merah sampai jingga diberikan oleh senyawa flavon, warna merah tua diberikan untuk senyawa flavonol atau flavonon dan warna hijau sampai biru diberikan oleh senyawa aglikon atau glikosida (Marliana et al., 2005).



Gambar 8. Hasil Uji Flavonoid (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun

3. Tanin

Hasil uji tanin dikatakan positif ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman. Pengujian ekstrak daun lamun untuk identifkasi senyawa tanin menunjukkan hasil yang positif kuat (Gambar 9a) sedangkan pada ekstrak akar lamun hasilnya positif lemah (Gambar 9b), karena pada ekstrak daun warna hijau kehitaman lebih terlihat jelas. Tanin ditunjukkan dengan adanya perubahan warna setelah penambahan FeCl₃ yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin. Penambahan FeCl₃ menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa tanin (Astarina *et al.*, 2013).



Gambar 9. Hasil Uji Tanin (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun

4. Steroid

Senyawa steroid yang diidentifikasi dari ekstrak daun lamun menunjukkan hasil yang positif kuat (Gambar 10a), sedangkan di ekstrak akar lamun menunjukkan hasil yang positif lemah (Gambar 10b),. Hal ini dikarenakan pada akhir pengujian menunjukkan adanya warna hijau pada ekstrak daun lamun dan kuning agak kehijauan pada ekstrak akar lamun. Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpeoid, adapun contohnya adalah sterol, sapogenin, glikosida jantung dan vitamin D. Reaksi positif pada uji steroid adalah dengan terbentuknya laruran berwarna hijau pada akhir pengujian (Astarina et al., 2013).



Gambar 10. Hasil Uji Steroid (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun

5. Saponin

Adanya busa pada uji saponin ditunjukkan oleh ekstrak daun lamun (Gambar 11a), sedangkan pada ekstrak akar tidak terbentuk busa (Gambar 11b). Saponin adalah senyawa yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air (Kristanti et al., 2008). Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yng memiliki kemampuan untuk membentuk buih di dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana et al., 2005).



Gambar 11. Hasil Uji Saponin (a) Ekstrak daun lamun (b) Ekstrak akar lamun

Alkaloid adalah golongan senyawa organik yang ditemukan di alam. Alkaloid sebagian besar berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas pada berbagai jenis tumbuhan. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian organ tumbuhan seperti biji, daun dan batang. Sedangkan flavonoid merupakan kelompok dari senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa flavonoid merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat pada tumbuhan (Kristanti *et al.*, 2008). Berdasarkan uraian diatas lamun termasuk dalam tumbuhan yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid dan flavonoid yang berpotensi sebagai antibakteri.

Senyawa aktif golongan flavonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa komplek dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler dari dalam sel dan mengakibatkan terjadinya kematian sel. Golongan senyawa steroid juga memiliki potensi sebagai antibakteri dengan mekanisme peningkatan permeabilitas membrane sel yang menyebabkan terjadinya kebocoran sel dan bagian intrasel akan keluar dan mengakibatkan sel lisis (Vickery dan Vickery (1981) dalam Dewi 2013).

Mekanisme kerja yang ditunjukkan oleh senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid dan steroid sebagai antibakteri sama dengan cara kerja antibiotik. Antibiotik memiliki cara kerja dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri dan merusak membrane sel bakteri. Berdasarkan uraian di atas senyawa aktif yang terkandung dalam lamun dapat digunakan sebagai antibakteri yang bersifat alami.

4.3 Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Daun dan Akar Lamun *Enhalus* acoroides

4.3.1 Ekstrak Daun Lamun Enhalus acoroides

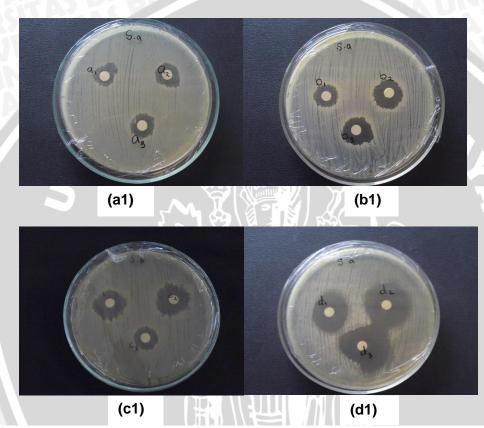
Aktivitas daya hambat ekstrak daun lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode cakram menunjukkan terbentuknya zona hambat pada sekitar kertas cakram (*paper disc*). Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil pengujian aktivitas hambat ekstrak etanol daun lamun *Enhalus* acoroides terhadap bakteri *Staphylococcus* aureus.

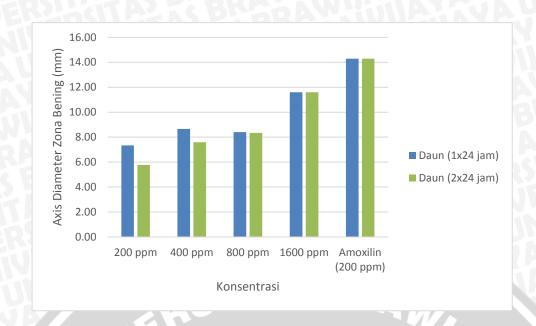
Ekstrak	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)	
Enhalus acoroides	(ppm)	24 jam	48 jam
Daun	200 ppm	7,33± 0,91	5,77± 1,85
	400 ppm	8,37± 1,11	7,60± 0,46
	800 ppm	8.40± 1,01	8,40± 1,01
	1600 ppm	11,60±1,51	11,60± 1,51
	Amoxilin (200 ppm)	14,3	13,8
	Etanol		0

Hasil pengamatan terhadap ekstrak daun lamun Enhalus acoroides terhadap bakteri Sthapylococcus aureus menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram terdapat pada konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm dapat dilihat pada Gambar 12. Ekstrak daun lamun Enhalus acoroides pada penelitian ini terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus. Semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin besar pula daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus ditunjukkan dengan grafik pada Gambar 13. Hal itu dikarenakan ekstrak etanol daun lamun Enhalus acoroides mengandung senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid,tannin, steroid dan saponin yang berfungsi sebagai 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). Hasil penelitian ini bersesuaian dengan penelitian yang dilakukan oleh Ismail *et al.*, (2012) yang membuktikan bahwa ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan metode cakram dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan efektifitas kuat.



Gambar 12. Hasil uji antbiakteri ekstrak etanol daun lamun *Enhalus acoroides* dengan masa inkubasi 1x24 jam. (a) konsentrasi 200 ppm (b) konsentrasi 400 ppm (c) konsentrasi 800 ppm (d) konsentrasi 1600 ppm dengan 3 kali pengulangan



Gambar 13. Grafik diameter zona hambat ekstrak etanol daun *lamun Enhalus* acoroides pada pengamatan 1x24 jam dan 2x24 jam



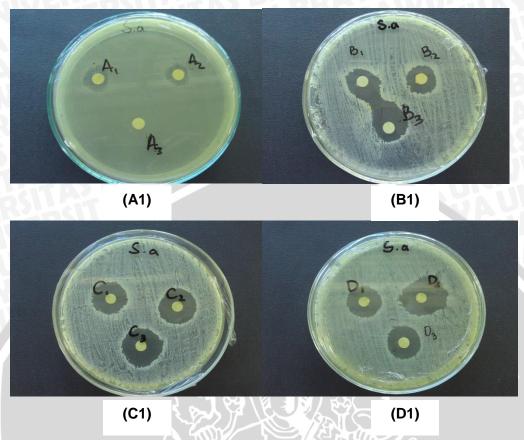
4.3.2 Ekstrak Akar lamun Enhalus acoroides

Aktifitas antibakteri ekstrak akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan adanya zona hambat. Zona hambat merupakan daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureusi* dapat dilihat pada Tabel 8.

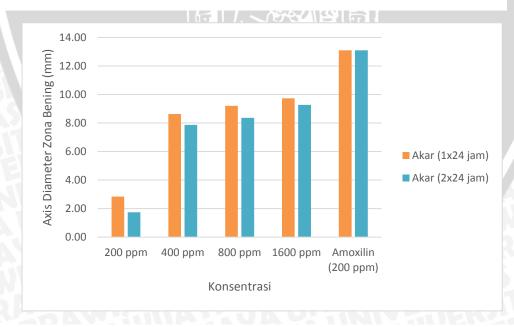
Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas hambat ekstrak etanol akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Ekstrak	Konsentrasi	Diameter zona	hambat (mm)
Enhalus acoroides	(ppm)	24 jam	48 jam
Akar	200 ppm	2,83±2,49	1,73± 1,66
	400 ppm	8,63± 1,11	7,87± 1,22
	800 ppm	9,20± 0,53	8,37± 0,59
	1600 ppm	9,73± 0,42	9,23± 0,50
	Amoxilin (200 ppm)	13,1	13,1
	Etanol		0

Hasil pengamatan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol akar lamun *Enhalus acoroides* ditunjukkan pada konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm (Gambar 14). Pada penelitian ini seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak akar *Enhalus acoroides* yang digunakan maka zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar. Hal itu dikarenakan pada uji fitokimia yang telah dilakukan ekstrak akar lamun diidentifikasi mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Pelczar dan Chan (1986) *dalam* Adila *et al.*, (2013) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka senyawa aktif antibakteri yang terkandung di dalamnya semakin banyak sehingga kemampuan senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba semakin tinggi. Pengamatan zona hambat ekstrak akar lamun *Enhalus acoroides* pada masa inkubasi 2x24 jam lebar zona hambat mengalami penurunan atau berkurang ditunjukkan oleh semua konsentrasi (Gambar 15).



Gambar 14. Hasil uji antbiakteri ekstrak etanol akar lamun *Enhalus acoroides* dengan masa inkubasi 1x24 jam. (A) konsentrasi 200 ppm (B) konsentrasi 400 ppm (C) konsentrasi 800 ppm (D) konsentrasi 1600 ppm dengan 3 kali pengulangan



Gambar 15. Grafik diameter zona hambat ekstrak etanol akar lamun *Enhalus acoroides* pada pengamatan 1x24 jam dan 2x24 jam.

4.3.3 Perbandingan Zona Hambat Ekstrak Daun dan Akar Lamun *Enhalus* acoroides

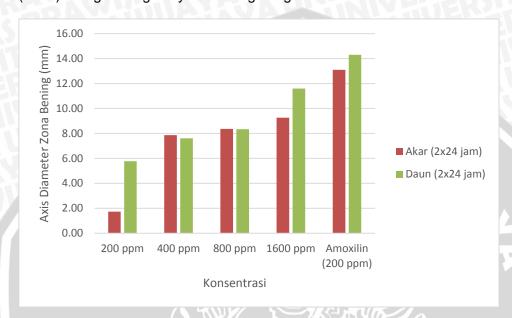
Hasil pengujian aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun dan akar lamun *Enhalus acororides*, menunjukkan adanya potensi antibakteri pada kedua ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun dan akar *Enhalus acoroides* terhadap bakteri *Staphylococcua aureus.*

Ekstrak	Konsentrasi	Diameter zona	hambat (mm)
Enhalus acoroides	(ppm)	24 jam	48 jam
Daun	200 ppm	7,33± 0,91	5,77± 1,85
	400 ppm	8,37± 1,11	7,60± 0,46
	800 ppm	8.40± 1,01	8,40± 1,01
	1600 ppm	11,60±1,51	11,60± 1,51
	Amoxilin (200 ppm)	14,3	14,3
	Etanol		0
Akar	200 ppm	2,83±2,49	1,73± 1,66
	400 ppm	8,63±1,11	7,87± 1,22
	800 ppm	9,20± 0,53	8,37± 0,59
	1600 ppm	9,73± 0,42	9,23± 0,50
	Amoxilin (200 ppm)	13,1	13,1
	Etanol	0	0

Pada penelitian ini dari beberapa kosentrasi yang digunakan ekstrak daun lamun *Enhalus acoroides* memiliki lebar zona bening yang lebih besar daripada zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak akar lamun *Enhalus acoroides yang* ditunjukkan oleh grafik pada Gambar 16. Perbedaan tersebut diduga karena adanya perbedaan kandungan senyawa aktif yang terkandung pada kedua ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada uji fitokmia yang telah dilakukan bahwa ekstrak daun lamun memiliki senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, tannin, steroid dan saponin, dimana jumlah tersebut lebih banyak daripada senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak akar lamun yaitu alkaloid, flavonoid, tannin dan steroid (Tabel 6). Penelitian yang dilakukan oleh Mani *et al.*, 2012

menunjukkan bahwa ekstrak daun *Cymodocea rotundata* diketahui mengandung senyawa aktif golongan tannin, saponin, terpenoid dan alkaloid, sedangkan ekstrak akar lamun *Cymodocea serrulata* yang terlah diidentifikasi oleh Ali *et al.*, (2012) mengandung senyawa aktif golongan alkaloid dan tannin.



Gambar 16. Grafik diameter zona hambat ekstrak etanol daun dan akar lamun *Enhalus acoroides* pada pengamatan 2x24 jam.

Penggunaan etanol sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat disekitar kertas caktram. Hal ini menunjukkan bahwa etanol sebagai pelarut yang digunakan dalam proses ekatraksi tidak memiliki pengaruh pada uji antibakteri. Amoxilin sebagai kontrol positif menunjukkan aktifitas penghambatan dalam kategori kuat (Gambar 17). Amoxilin merupakan turunan dari penicillin yang mempunyai spektrum luas (dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif), mekanisme kerja dari amoxicillin yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri (Pelczar dan Chan, 1988). Hasil pengukuran zona hambat amoxilin (200 ppm) adalah sebesar 14,3 mm. Untuk menentukan potensi suatu ekstrak positf sebagai antibakteri dilihat berdasarkan tolak ukur kontrol positifnya pada uji cakram. Pada beberapa ulangan nila rata-rata konsentrasi 1600 ppm ekstrak daun lamun hasilnya mendekati hasil dari kontrol positif. Penentuan kriteria

daya hambat bakteri berdasarkan Davis dan Stout (1971) *dalam* Dewi (2010) yang menyatakan bahwa ketentuan kekuatan daya antibakteri yaitu : zona hambatan 20 mm atau lebih termasuk kategori sangat kuat, zona hambat 10-20 mm termasuk kategori kuat, zona hambat 5-10mm termasuk kategori sedang dan daerah hambatan 5mm atau kurang termasuk kategori lemah.



Gambar 17. Kontrol positif Amoxilin terhadap bakteri Staphylococcus aureus

Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dapat mempengaruhi lebar zona hambat yang dihasilkan. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan dari struktur dinding sel dari bakteri. Perbedaan yang perlu dipahami antara bakteri gram positif dan gram negatif adalah struktur dinding sel, karena dinding sel itulah yang menyebabkan kedua kelompok bakteri ini memberikan respon terhadap berbagai perlakuan seperti antibiotik-antibiotik tertentu (Pelczar dan Chan 1986). Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena bakteri gram positif memiliki struktur dinding selnya lebih sederhana daripada struktur dinding sel bakteri gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam dinding sel bakteri gram positif (Pelczar dan Chan, 1988). Pada penelitian yang dilakukan oleh Mani et al., (2012) bahwa ekstrak etanol *Cymodocea rotundata* memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 4mm daripada bakteri *E. coli* sebesar 1mm.

4.4 Sifat Antibakteri Ekstrak Daun dan Akar Lamun Enhalus acoroides.

Senyawa antibakteri mempunyai dua sifat yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Secara garis besar antimikroba dibagi menjai dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakteriosid) antara lain penisilin, sefalosporin, aminoglikosida dan lain-lain. dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik) antara lain tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin dan lain-lain (Laurence dan Bennet 1987 dalam Utami 2012).

Senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun lamun *Enhalus acoroides* bersifat bakteriostatik artinya ekstrak tersebut hanya dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri uji terdapat pada konsentrasi 200 ppm dan 400 ppm, hal tersebut dikarenakan berkurangnya lebar diameter zona hambat setelah waktu inkubasi 48 jam. Pada konsentrasi 800 ppm dan 1600 ppm bersifat bakteriosidal, karena pada waktu inkubasi 48 jam zona hambat yang terbentuk tidak mengalami perubahan atau tidak berkurang (Gambar 14). Sedangkan pada ekstrak etanol akar lamun bersifat bakteriostatik, karena pada waktu inkubasi 48 jam lebar zona hambat mengalami penurunan pada semua konsentrasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Riniatsih dan Setyati (2009) menunjukkan hal yang sama. Hasil aktivitas antibakteri ekstrak lamun *Thalassia hemprinchii* terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio harveyii* menunjukkan penurunan zona hambat pada waktu inkubasi 48 jam. Penurunan diameter zona hambatan yang terjadi selama penelitian menunjukan bahwa bahan aktif antibakteri bersifat bakteriostatik.

4.5 Perbedaan Zona Hambat terhadap Konsentrasi dan Organnya

Analisis statistik yang digunakan untuk mengetahui perbedaan lebar zona hambat terhadap konsentrasi ekstrak dan organ lamun yaitu menggunakan metode sidik ragam / *Analysis of Variance* (ANOVA). Syarat yang harus dipenuhi untuk melakukan uji ANOVA yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas untuk mengetahui apakah data yang digunakan berdistribusi normal atau tidak. Uji homogenitas untuk mengetahui apakah data yang digunakan homogen atau tidak. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas data menggunakan SPSS 16.0 dapat dilihat pada Tabel 10 dan Tabel 11.

Tabel 10. Uji Normalitas Data

Uji Normalitas Data (Shapiro-wilk)		Nilai Signifikasi (p)
Konsentrasi	200 ppm	0.623*
	400 ppm	0.818*
	800 ppm	0.468*
	1600 ppm	0.717*
Organ	Daun	0.11*
	Akar	0.327*

^{*}Berdistribusi normal pada nilai (p) >0,05

Tabel 11. Uji Homogenitas data

Uji Homogeitas Data (Berdasarkan nilai rata-rata)	Nilai Signifikasi (p)
Konsentrasi	0.098*
Organ	0.161*

^{*}Berdistribusi normal pada nilai (p) >0,05

Setelah diketahui data berdistribusi normal maka bisa dilanjutkan ke tahap analisa selanjutnya yaitu menggunakan analisa ANOVA. Hasil pengolahan data zona hambat terhadap konsentrasi ekstrak dan organnya menggunakan ANOVA dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Nilai Signifikasi Analisis Statistik ANOVA

ANOVA	Nilai Signifikasi (p)
Konsentrasi	0.000*
Organ	0.000*
Konsentrasi*organ lamun	0,000*

^{*}Beda signifikan (<0,05)

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan ANOVA, pada Tabel 12 lebar zona hambat terhadap konsentrasi dan organ lamun menunjukkan nilai yang signifikan, karena nilai dari keduanya di bawah 0,05. Zona hambat yang dihasilkan menunjukkan hasil yang signifikan terhadap organ lamun (akar dan daun) dengan nilai signifikansinya sebesar 0,000 (p<0,05). Perbedaan yang signifikan juga ditunjukkan pada lebar zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram terhadap konsentrasi ekstrak yang digunakan dengan nilai signifikansinya sebesar 0.000 (p<0.05).

Hasil analisis mengenai lebar zona hambat terhadap berbagai konsentrasi ekstrak yang digunakan menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 (p<0,005), apabila nilai signifikansi di bawah 0.05 maka perlu dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Uji BNT dilakukan untuk mengetahui konsentrasi yang memiliki nilai signifikan terkecil. Uji BNT lebar zona hambat terhadap konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 13. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) zona hambat terhadap konsentrasi

Kon	sentrasi	Nilai Signifikasi (p)
	400 ppm	0,000*
200 ppm	800 ppm	0,000*
	1600 ppm	0,000*
400 ppm	800 ppm	0,386
400 ppm	1600 ppm	0,002
800 ppm	1600 ppm	0,22

^{*}Beda signifikan (<0,05)

Hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) menunjukkan bahwa perbedaan zona hambat pada masing-masing konsentrasi diperoleh hasil dengan perbedaan yang paling signifikan dengan nilai signifikan terkecil sebesar 0,000 (p<0,05) adalah konsentrasi 200 dan 400, 200 dan 800 serta 200 dan 1600. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi 200 merupakan konsentrasi terendah yang digunakan pada penelitian ini dan diduga senyawa aktif yang terkandung lebih rendah daripada konsentrasi yang lain. Pelczar dan Chan (1986) *dalam* Adila *et al.*, (2013) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka senyawa aktif antibakteri yang terkandung semakin banyak sehingga kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba semakin tinggi pula.



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian dengan judul Uji Aktivitas Antibakteri Pada Ekstrak Daun dan Akar lamun *Enhalus acoroides* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu:

- Berdasarkan uji fitokimia pada ekstrak etanol daun lamun Enhalus acoroides terdapat kandungan senyawa aktif golongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin sedangkan ekstrak etanol akar lamun diidentifikasi senyawa aktif golongan alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid.
- Aktivitas antibakteri ekstrak daun dan akar lamun Enhalus acoroides yang berasal dari Perairan Paciran, Kabupaten Lamongan terhadap bakteri Staphylococcus aureus menunjukkan adanya zona hambat atau zona hambat di sekitar kertas cakram.
- 3. Perbedaan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan adanya zona bening yang terdapat di sekitar kertas cakram.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah

- 1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan konsentrasi optimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pathogen dan mengisolasi senyawa murni yang terdapat pada ekstrak lamun *Enhalus acoroides* yang lebih berpotensi sebagai antibakteri.
- Untuk pengamatan zona bening sebaiknya dilakukan sampai 3x24 jam untuk memastikan lebih lanjut sifat dari antibakteri yaitu bakterioststik dan bakteriosidal mengingat konsentrasi yang digunakan berbeda.

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.
- Afandi Ahmad, Andarini Fauzia, Lesana Suri D. 2009. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon lodium 10% Terhadap *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus aureus* Sensitif Metisilin (MSSA). Jurnal Ilmu Kedokteran. Vol. 3, No.1: 14-19
- Alfath Cut R., Vera Yulina, ,Sunnati. 2013. Antibacterial Effect of *Granati fructus* Cortex Ekstract on *Streptococcus mutans In Vitro. Journal of Dentistry Indonesia* Vol. 20,No.1: 5-8.
- Ali M.S, Ravikumar, S., Beula. J.M, 2012. Bioactivity of seagrass against the dengue fever mosquito Aedes aegypti larvae . *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2012) 570-573.
- America Aquarium. 2015. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Psitif dan Negatif. (http://www.americanaquariumproducts.com/images/graphics/bacteria .jpg. Diakses pada tanggal 5 Juni 2015. Pukul 10.30 WIB).
- Amin Lukman Z. 2014. Pemilihan Antibiotik yang Rasional. *Scientific Journal Of Pharmaceutical Development And Medical Application*. Vol. 27, No.3: 40-45
- Arifudin, M. 2013. Sitotoksitas Bahan Aktif Lamun Dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar Terhadap *Artemia salina* (Linnaeus, 1758). *Skripsi.* Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Astarina N.W.G., Astuti, K.W., Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). Jurnal Farmasi. Fakultas MIPA. Universitas udayana. Bali.
- Azkab M.H. 1999. Petunjuk Penanaman Lamun. Oseana, Vol XXIV, No. 3:11 25.
- Azkab M.H. 2006. Ada Apa Dengan Lamun. Oseana, Vol XXXI, No. 3: 45 55.
- Badan Standarisasi Nasional. 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. SNI 7388. ICS 67.220.20.

- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. McGraw Hill: New York.
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Dewi Citra S.U, Dedi Soedharma, Mujizat Kawaroe. 2012. Komponen Fitokimia Dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Lamun *Enhalus acoroides* Dan *Thalassia Hemprichii* Dari Pulau Pramuka, Dki Jakarta. Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan. Vol. 3. No. 1 November 2012: 23-28.
- Dewi, U.C.S. 2013. Potensi Lamun Jenis *Enhalus acoroides* Dan *Thalassia hemprichii* Dari Pulau Pramuka, Dki Jakarta Sebagai *Bioantifouling*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hadiwiyoto, Suwedo. 1993. Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Jilid 1. Liberty: Yogyakarta.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Kokasih Padmawita, Iwang Soediro. Penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical methods*.
- Ismail, M.S.A.M., M.F. Ismail, N. Bohari, N.F.M. Jalani, A.A.Zamri, and Z.M.Zain, 2012. Antimicrobial and anticancer properties of leaf extracts of Seagrass *Enhalus acoroides*. *International Journal of Undergraduate Studies*, 1(1), 32-36, 2012.
- Juwita A P, Paulina V.Y Y, Hosea J E. 2013. Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Lamun (Syringodium Isoetifolium). PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT Vol. 2 No. 02: 8-13
- Kanan Raja RR, R Arumugam, P Anantharaman. 2010. In vitro antioxidant activities of ethanol extract from *Enhalus acoroides* (L.F.) Royle Asian Pacific Journal of Tropical Medicine (2010):898-90.
- Kanan Raja RR, R Arumugam, P Anantharaman. 2012. Chemical composition and antibacterial activity of Indian seagrasses against urinary tract pathogens. *Food Chemistry* 135 (2012) 2470–2473.

- Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 51 Tahun 2004 tentang Baku Mutu Air Laut.
- Kiswara, W. dan Hutomo, M. 1985. Habitat Dan Sebaran Geografik Lamun. Oseana, Vol X, No 1: 21-30.
- Kordi, K.M. Ghufron.H. 2011. Ekosistem Lamun (Seagrass). Jakarta: Rineka Cipta.
- Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusuma, Sri Agung F. K. 2009. *Staphylococcus aureus*. Makalah. Universitas Padjajaran: Bandung.
- Mani Aswati M, Velammal A dan Jamila Patterson. 2012. Antibacterial Activity and Preliminary Phytochemical Analysis of Sea Grass *Cymodocea rotundata*. International Journal of Microbiological Research Vol. 3No. 2: 99-103.
- Mani Aswati M, Velammal A dan Jamila Patterson. 2012. Phytochemicals of the Seagrass *Syringodium isoetifolium* and its Antibacterial and Insecticidal Activities. European Journal of Biological Sciences Vol. 4. No.3: 63-67.
- Marliana, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi Vol. 3, No.1: 26-31.
- Nurfadilah. 2013. Uji Bioaktifitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Lamun Dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Oktavianus, S. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Pelczar, M.J dan E.S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi Edisi ke-1. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Pelczar, M.J dan E.S. Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi Edisi ke-2. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).

- Qi Shi-Hua, Si Zhang, Pei-Yuan Qian, Bin-Gui Wang. 2008. Antifeedant, Antibacterial, And Antilarval Compounds From The South China Sea Seagrass *Enhalus acoroides*. Botanica Marina 51:1-7.
- Radji, Maksum, H. Oktavia, dan H. Suryadi. 2008. Pemeriksaan Bakteriologis Air Minum Isi Ulang di Beberapa Depo Air Minum Isi Ulang di Daerah Lenteng Agung dan Srengseng Sawah Jakarta Selatan. *Majalah Ilmu kefarmasian* V(2): 101-109.
- Riniatsih I, Setyati W.A. 2009. Bioaktivitas Ekstrak Dan Serbuk Lamun *Enhalus* acoroides Dan *Thalassia Hemprichii* Pada *Vibrio Alginolyticus* Dan *Vibrio Harveyii*. Ilmu Kelautan.. Vol. 14 (3): 138 -14.
- Rumiantin, 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Enhalus acoroides*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Santoso J., Anwaria S., Rumiantin R.O., Putri A.P., Ukhty N., Yumiko Y-S. 2012. Phenol Content, Antioxidant Activity And Fibers Profile Of Four Tropical Seagrasses From Indonesia. Journal of Coastal Development. Vol 15. No 2: 189-196.
- Seagrasswacth. 2015. Enhalus acoroides. (http://www.seagrasswatch.org/id_seagrass.html . Diakses pada 12 Maret 2015 pukul 19.00 WIB).
- Tiwari Prashant., Kumar Bimlesh., Kaur Mandeep., Kaur Gurpreet, Kaur Harleen. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceuticasciencia. Vol 1, No 1: 98-106
- Todar, Kenneth. 2005. Staphylococcus (http://www.textbookofbacteriology.net Diakses pada tanggal Diakses pada 12 Maret 2015 pukul 19.00 WIB).
- Trianto et al. 2004. Ekstrak Daun Mangrove Aegiceras corniculatum Sebagai Antibakteri Vibrio harveyi dan Vibrio parahaemolyticus. Jurnal Ilmu Kelautan.. Vol. 9 (4): 186 189.
- Utami Eka R. 2011. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. El-Haya. Vol. 1, No.4: 191-198.
- Warbung Y.Y., Wowor V.N.S., Posangi J. 2014. Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Callyspongia sp* terhadap Pertubuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. E-journal.unsrat.ac.id. Universitas Sam Ratulangi. Makasar.

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



LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Etanol 96% dan DMSO 10%

a. Larutan Etanol 96%

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

$$750 \times 100 = V2 \times 96$$

$$V2 = \frac{75000}{96}$$

$$= 781 \, ml$$

$$= 781 - 750 = 30 \, ml$$

Jadi, untuk membuat larutan etanol 96% adalah 719 ml etanol p.a ditambahkan pelarut aquades sebanyak 31 ml hingga volume larutan 750 ml.

b. Larutan DMSO 10%

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

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

$$V1 = \frac{1000}{100}$$
$$= 10 \, ml$$

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

Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Lamun

a. Larutan Stok 1600 ppm

$$1600 \ ppm = \frac{1600 \ mg}{1000 \ ml} = \frac{16 \ mg}{10 \ ml} = \frac{0.16 \ gr}{10 \ ml}$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 1600 ppm adalah 0,16 gr ekstrak lamun Enhalus acoroides dilarutkan dengan DMSO 10% sebanyak 10 ml.

b. Larutan ekstrak konsentrasi 800 ppm

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

$$V1 \times 1600 = 1 \times 800$$

$$V1 = \frac{800}{1600}$$
$$= 0.5 \, ml$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 800 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.

c. Larutan ekstrak konsentrasi 400 ppm

$$V1 x M1 = V2 x M2$$

$$V1 x 1600 = 1 x 400$$

$$V1 = \frac{400}{1600}$$

$$= 0.25 ml$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 400 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.

d. Larutan ekstrak konsentrasi 200 ppm

$$V1 x M1 = V2 x M2$$

$$V1 x 1600 = 1 x 200$$

$$V1 = \frac{200}{1600}$$

$$= 0.125 ml$$

Jadi, untuk membuat larutan stok 200 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 Tryptone Soya Agar (TSA)

Media TSA (Tryptone Soya Agar) dalam cawan petri :

$$= \frac{Massa\ Jenis\ TSA}{1000}\ x\ Jumlah\ Cawan\ x\ Volume\ Cawan$$

$$= \frac{40}{1000} \times 20 \times 20 ml$$

$$=40 gr$$

Media TSA yang dibutuhkan untuk membuat media uji antibakteri dalam cawan petri sebanyak 3 kali ulangan adalah 40 gr.

Media TSA (*Tryptone Soya Agar*) untuk peremajaan bakteri *Staphylococcus* aureus dalam tabung reaksi:

$$=\frac{Massa\ Jenis\ TSA}{1000}\ x\ Jumlah\ Tabung\ Reaksi\ x\ Volume\ Tabung\ Reaksi$$

$$= \frac{40}{1000} \times 2 \times 10 \ ml$$

$$= 0.8 gr$$

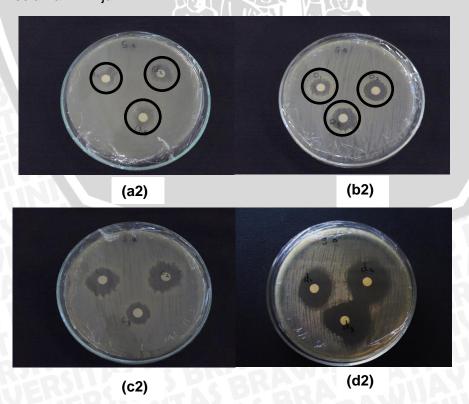
MediaTSA yang dibutuhkan untuk peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam tabung reaksi sebanyak 0,8 gr.

Lampiran 4. Hasil Pengamatan Zona Bening

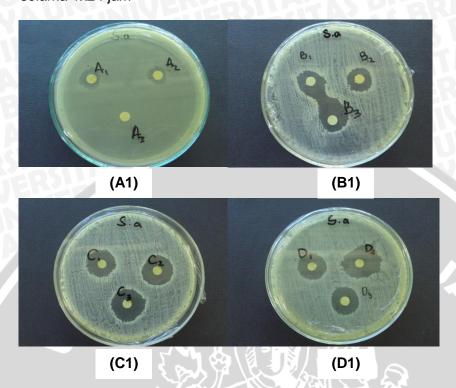
a. Hasil Pengamatan zona bening ekstrak daun lamun *Enhalusa acoroides* selama 1x24 jam



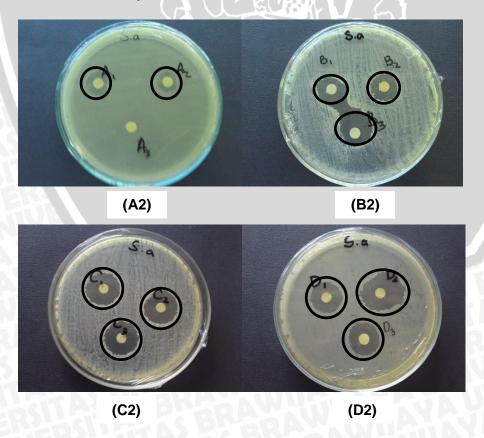
b. Hasil Pengamatan zona bening ekstrak daun lamun *Enhalusa acoroides* selama 2x24 jam.



c. Hasil Pengamatan zona bening ekstrak akar lamun *Enhalusa acoroides* selama 1x24 jam



d. Hasil Pengamatan zona bening ekstrak akar lamun *Enhalusa acoroides* selama 2x24 jam



Lampiran 5. Uji ANOVA One Way

A. ANOVA Zona hambat terhadap Organ lamun

1. Tes Normalitas dan Homogenitas Zona hambat terhadap organ lamun (Akar dan Daun)

Tests of Normality

			Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Akar Daun	Statistic	df	Siq.	Statistic	df	Siq.
•	Zona_Bening	Daun	.267	12	.018	.807	12	.011
1		Akar	.153	12	.200	.925	12	.327

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona_Bening	Based on Mean	2.103	1	22	.161
	Based on Median	.783	:1	22	.386
	Based on Median and with adjusted df	.783	1	16.278	.389
	Based on trimmed mean	1.609	a1	22	.218

2. Uji ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Zona Bening

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Siq.
Corrected Model	307.513°	7	43.930	29.495	.000
Intercept	3052.830	1	3052.830	2.050E3	.000
Konsentrasi	236.338	3	78.779	52.893	.000
Akar_Daun	22.963	1	22.963	15.418	.000
Konsentrasi * Akar_Daun	48.212	3	16.071	10.790	.000
Error	59.577	40	1.489		
Total	3419.920	48			
Corrected Total	367.090	47			

a. R Squared = ,838 (Adjusted R Squared = ,809)

^{*.} This is a lower bound of the true significance.

B. ANOVA Zona benig terhadap Organ Lamun (Akar dan Daun)

1. Tes Normalitas dan Homogenitas Zona hambat terhadap Konsentrasi

0.02		Tes	sts of Norm	ality			
		Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
55.	Konsentrasi	Statistic	df	Siq.	Statistic	df	Siq.
Zona_Bening	200	.183	6	.200	.936	6	.623
	400	.191	6	.2001	.960	6	.818
	800	.258	6	.200'	.915	6	.468
30	1600	.193	6	.200	.947	6	.717

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona_Bening	Based on Mean	2.404	3	20	.098
	Based on Median	2.285	3	20	.110
	Based on Median and with adjusted df	2.285	3	12.337	.130
	Based on trimmed mean	2.406	3	20	.097

2. Uji ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Zona Bening								
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Siq.			
Corrected Model	307.513°	7	43.930	29.495	.000			
Intercept	3052.830	1	3052.830	2.050E3	.000			
Konsentrasi	236.338	3	78.779	52.893	.000			
Akar_Daun	22.963	1	22.963	15.418	.000			
Konsentrasi * Akar_Daun	48.212	3	16.071	10.790	.000			
Error	59.577	40	1.489					
Total	3419.920	48						
Corrected Total	367.090	47						

a. R Squared = ,838 (Adjusted R Squared = ,809)

^{*.} This is a lower bound of the true significance.

3. Uji BNT (Beda Nyata terkecil)

Multiple Comparisons

Zona_Bening

(1)	(J)	7500			95% Confid	95% Confidence Interval		
Kons entra si	Kóns entra si	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound		
200	400	-3.7750	.70376	.000	-5.1933	-2.3567		
	800	-4.3917	.70376	.000	-5.8100	-2.9733		
	1600	-6.0667	.70376	.000	-7.4850	-4.6483		
400	200	3.7750	.70376	.000	2.3567	5.1933		
	800	6167	.70376	.386	-2.0350	.8017		
	1600	-2.2917	.70376	.002	-3.7100	8733		
800	200	4.3917	.70376	.000	2.9733	5.8100		
	400	.6167	.70376	.386	8017	2.0350		
	1600	-1.6750	.70376	.022	-3.0933	-,2567		
1600	200	6.0667	.70376	.000	4.6483	7.4850		
	400	2.2917	.70376	.002	.8733	3.7100		
	800	1.6750	.70376	.022	.2567	3.0933		

Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.972.



^{*.} The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 6. Alat dan Bahan yang digunakan pada saat penelitian



Cawan Petri



Rak Tabung reaksi dan tabung reaksi



Vortex mixer



Mikropipet dan blue tip



Triangle, jarun ose dan pinset



Autoklaf



Jangka sorong



Timbangan Digital



Bakteri uji



Kompor listrik



Inkubator



Etanol p.a

Lampiran 7. Dokumentasi Proses Uji Antibakteri

a. Proses Ekstraksi daun dan akar lamun Enhalus acoroides



Pengering lamun Enhalus acoroides



Penimbangan lamun Enhalus acoroides



Penghalusan lamun Enhalus acoroides



Pengayakan lamun Enhalus acoroides



Serbuk halus daun dan akar lamun *Enhalus acoroides*



Proses Maserasi



Proses Filtrasi



Proses evaporasi

b. Proses Uji Fitokimia



Larutan untuk uji alkaloid



Larutan untuk uji flavonoid



Larutan untuk uji steroid



Larutan untuk uji tanin



Larutan untuk uji saponin

c. Pembuatan Media Agar







Pembuatan Media TSA

d. Proses Peremajaan Bakteri





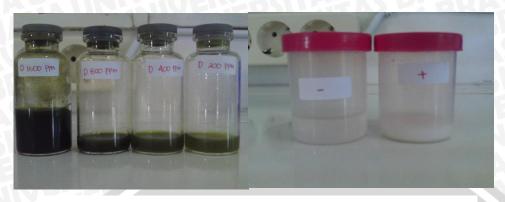
Inokulasi bakteri uji ke media agar miring

e. Pembuatan Larutan Uji





Proses Penimbangan Ekstrak *Enhalus acoroides* dan Proses Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

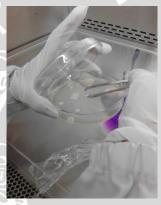


Larutan uji 1600 ppm, 800 ppm, 400 ppm , 200 ppm, kontrol positif dan kontrol negatif

f. Uji antibakteri



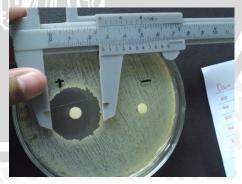




Inokulasi Bakteri Di Atas Media Agar Denggan *Cotton Swab* dan Proses Peletakan Kertas Cakram



Media yang sudah diletakkan kertas cakram



Pengukuran zona hambat dengan jangka sorong