

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK LAMUN *Enhalus acoroides*  
TERHADAP BAKTERI *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus*, DI  
PANTAI PACIRAN - LAMONGAN**

Oleh:  
**MUHAMMAD MIKHA'IL YAFIS**  
NIM. 115080600111025

Menyetujui :

**Dosen Penguji I**

**(Dr. Ir. Guntur, MS)**

**NIP. 19580605 198601 1 001**

**Tanggal:**

**Dosen Pembimbing I**

**(Feni Iranawati, S.Pi., M.Sc., Ph.D.)**

**NIP. 197408 12200312 2 001**

**Tanggal:**

**Dosen Penguji II**

**(Syarifah Hikmah J.S, S.Pi., M.Sc.)**

**NIP. 19840720 201404 2 002**

**Tanggal:**

**Dosen Pembimbing II**

**(Dwi Candra Pratiwi, S.Pi., M.Sc., MP)**

**NIK. 86011508120318**

**Tanggal:**

**Mengetahui,**  
**Ketua Jurusan PSPK**

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

**Tanggal :**

## PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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



Malang, Juli 2015

Mahasiswa

Muhammad Mikha'il Yafis  
NIM.115080600111025

## UCAPAN TERIMAKASIH

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

1. Allah SWT berkat rahmat dan hidayah-Nya penelitian ini dapat terselesaikan
2. Orang tua dan keluarga yang selalu memberi dukungan, materi, motivasi dan doa restu selama penelitian dan penyusunan laporan skripsi
3. Feni Iranawati. S.Pi, M.Sc, Ph.D, selaku Dosen Pembimbing I Skripsi yang memberi motivasi, masukan dan bimbingan selama proses penelitian dan penyusunan laporan
4. Dwi Candra Pratiwi S.Pi, M.Sc, MP, selaku Dosen Pembimbing II Skripsi yang selalu sabar memberi masukan, solusi, pengarahan dan bimbingan selama proses penelitian dan penyusunan laporan
5. Dr. Ir Guntur, MS selaku Dosen Penguji I yang memberi masukan dan pembenahan dalam penyusunan laporan
6. Syarifah Hikmah J.S, S.Pi., M.Sc selaku Dosen Penguji II yang memberi masukan dan pembenahan dalam penyusunan laporan
7. Teman-teman seperjuangan tim biotek (Betzi, Siek, Doni, Buyung, Ucil), serta mbak Dita, mas Indra dan mas Andri.
8. Anak Ilmu Kelautan angkatan 2008 – 2014, terutama pada Magelhanz. Serta IAAS LC UB yang telah memberikan semangat.

Malang, 10 Agustus 2015

Penulis

## RINGKASAN

**MUHAMMAD MIKHA'IL YAFIS.** Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Daun Lamun *Enhalus acoroides* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dan *Staphylococcus aureus*, di Pantai Paciran – Lamongan. dibimbing oleh **Feni Iranawati** dan **Dwi Candra Pratiwi**.

---

Lamun (*Seagrass*) merupakan tumbuhan, berbuah, berbunga, berdaun dan berakar sejati yang tumbuh pada substrat berlumpur, berpasir dan berbatu yang hidup terendam di dalam air laut. terdiri atas 2 famili, 12 genus dan 48 spesies yang hidup dan berkembang biak pada lingkungan perairan laut dangkal, estuari yang mempunyai kadar garam tinggi, daerah yang selalu mendapat genangan air ataupun terbuka saat air surut, pada substrat pasir, pasir berlumpur, dan karang. Senyawa aktif pada lamun ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri terutama bakteri patogen namun setiap spesies bakteri terhadap senyawa bioaktif memiliki tingkat sensitifitas berbeda.

Tujuan dari Penelitian ini yaitu untuk mengetahui senyawa bioaktif dan aktivitas antibakteri pada ekstrak lamun *Enhalus acoroides*. Konsentrasi ekstrak daun lamun yang menunjukkan zona hambat terbesar pada bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus*. Lama waktu inkubasi pertama kali zona hambat terbentuk. Sifat senyawa pada ekstrak lamun *E. acoroides*.

Pengambilan sampel daun dilakukan di Pantai Paciran. Metode ekstraksi daun lamun yaitu maserasi selama 2x24 jam menggunakan pelarut methanol p.a dengan perbandingan 1:8, uji fitokimia untuk mengetahui senyawa Alkaloid, Flavonoid, Tanin, Saponin dan Triterpenoid uji antibakteri menggunakan metode cakram dengan konsentrasi 60ppm, 80ppm, 100ppm, dan 120 ppm. Data dianalisis secara deskriptif.

Hasil yang didapatkan dari uji fitokimia yaitu terdapat senyawa Alkaloid, Flavonoid, dan Saponin pada ekstrak lamun, konsentrasi ekstrak lamun *E. acoroides* yang paling besar membentuk zona hambat yaitu pada konsentrasi 120 ppm dengan lama inkubasi 30 jam pada bakteri *A. hydrophila* dan pada bakteri *S. aureus*. Pada waktu inkubasi 18 jam dalam 48 jam lama inkubasi. Sifat senyawa yang ada pada ekstrak *E. acoroides* yaitu bakteristatik.

## KATA PENGANTAR

Ucapan puji syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya laporan Skripsi yang berjudul “Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun *Enhalus acoroides* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dan *Staphylococcus aureus*” dapat terselesaikan dengan baik.

Laporan ini membahas tentang efektifitas antibakteri ekstrak daun lamun dari spesies *Enhalus acoroides* dalam menghambat pertumbuhan bakteri pathogen gram negatif *Aeromonas hydrophila* dan bakteri pathogen Gram positif *Staphylococcus aureus*.

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

Malang, 10 Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS .....	ii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	iii
RINGKASAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Penelitian.....	4
1.5 Kegunaan .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Klasifikasi Cymodocea rotundata.....	5
2.2 Bakteri .....	6
2.2.1 <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	6
2.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
2.3 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder .....	8
2.3.1 Alkaloid.....	9
2.3.2 Flavonoid.....	10
2.3.3 Triterpenoid .....	10
2.3.4 Saponin .....	11
2.3.5 Tanin .....	12
2.4 Proses Uji .....	12
2.4.1 Ekstraksi.....	12
2.4.2 Skrining Fitokimia .....	13
2.4.3 Uji Aktivitas Antibakteri .....	13
<b>3. METODOLOGI .....</b>	<b>15</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	15
3.2 Materi Penelitian.....	16
3.3 Alat dan Bahan.....	16
3.3.1 Alat Penelitian .....	16
3.3.2 Bahan Penelitian .....	16
3.4 Metode Penelitian .....	16
3.5 Prosedur Penelitian .....	17
3.5.1 Ekstraksi Lamun.....	19
3.5.2 Uji Fitokimia.....	20

3.6	Desain Penelitian Pendahuluan Uji aktivitas antibakteri.....	23
3.6.1	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	25
3.6.2	Pembuatan Media Agar NA ( <i>Nutrien Agar</i> ).....	25
3.6.3	Peremajaan Bakteri dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	26
3.6.4	Pembuatan Larutan Suspensi Bakteri Uji.....	26
3.6.5	Uji Antibakteri dengan Metode Cakram .....	27
3.7	Perhitungan Zona Hambat.....	28
3.8	Analisa Data .....	28
4.	PEMBAHASAN.....	29
4.1	Parameter Lingkungan .....	29
4.2	Hasil Ekstraksi.....	30
4.2.1	Rendemen Ekstrak .....	31
4.3	Hasil Uji Fitokimia .....	31
4.4	Uji Aktifitas Antibakteri.....	32
4.4.1	Konsentrasi Ekstrak lamun <i>E. acoroides</i> terhadap <i>A. hydrophila</i> dan <i>S. aureus</i> 32	
4.4.2	Waktu Pengamatan Uji Aktifitas Antibakteri .....	34
4.5	Sifat Senyawa Antibakteri.....	38
5.	PENUTUP .....	41
5.1	Kesimpulan.....	41
5.2	Saran.....	42
	DAFTAR PUSTAKA.....	43
	LAMPIRAN .....	47



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Standar kategori senyawa alkaloid pada uji fitokimia..... 21

Tabel 2. Standar kategori senyawa tanin pada uji fitokimia..... 21

Tabel 3. Standar kategori senyawa triterpenoid pada uji fitokimia..... 22

Tabel 4. Standar kategori senyawa flavonoid pada uji fitokimia..... 22

Tabel 5. Standar kategori senyawa saponin pada uji fitokimia..... 23

Tabel 6. Rancangan Penelitian *Aeromonas hydrophila*..... 24

Tabel 7. Rancangan Penelitian *Staphylococcus aureus*..... 25

Tabel 8. Data Parameter Lingkungan ..... 29

Tabel 9. Hasil uji fitokimia ekstrak lamun *Enhalus acoroides* ..... 31

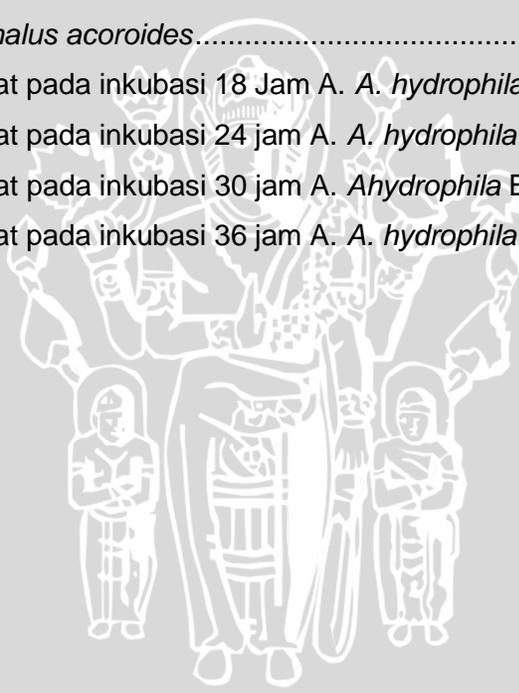
Tabel 10. Hasil uji aktifitas antibakteri *A. hydrophila* ..... 36

Tabel 11. Hasil uji aktifitas antibakteri *S. aureus*..... 36



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1. A. *Enhalus acoroides* (Nurfadilah, 2013), B. *Enhalus acoroides* (Lapang)5  
Gambar 2. *Aeromonas hydrophila* (Hayes. 2000) ..... 7  
Gambar 3. *Staphylococcus aureus* (Fardiaz, 1993) ..... 8  
Gambar 4. Alkaloid (Darwis, 2001) ..... 9  
Gambar 5. Flavonoid (Agestia, 2009) ..... 10  
Gambar 6. Peta lokasi pengambilan sampel lamun. .... 15  
Gambar 7. Prosedur Penelitian..... 18  
Gambar 8. Prosedur Uji Fitokimia ..... 20  
Gambar 9. Penempatan Kertas Cakram pada media NA (1) *A.hydrophila* ;(2).....  
*S.aureus*..... 24  
Gambar 10. Ekstrak *Enhalus acoroides*..... 31  
Gambar 11. Zona hambat pada inkubasi 18 Jam A. *A. hydrophila* B. *S. aureus* ..... 37  
Gambar 12. Zona hambat pada inkubasi 24 jam A. *A. hydrophila* B. *S. aureus* ..... 38  
Gambar 13. Zona hambat pada inkubasi 30 jam A. *Ahydrophila* B. *S.aureus* ..... 38  
Gambar 14. Zona hambat pada inkubasi 36 jam A. *A. hydrophila* B. *S. aureus* ..... 39



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Lamun (*Seagrass*) merupakan tumbuhan, berbuah, berbunga, berdaun dan berakar sejati yang tumbuh pada substrat berlumpur, berpasir dan berbatu yang hidup terendam di dalam air laut. Keberadaan lamun berada pada perairan laut terdapat antara batas daerah pasang surut (intertidal dan subtidal) sampai kedalaman tertentu dimana cahaya matahari masih dapat mencapai dasar laut (Purnama, 2014). Lamun terdiri atas 2 famili, 13 genus dan 50 spesies yang hidup dan berkembang biak pada lingkungan perairan laut dangkal, estuari yang mempunyai kadar garam tinggi, daerah yang selalu mendapat genangan air ataupun terbuka saat air surut, pada substrat pasir, pasir berlumpur, dan karang, dari 13 genus yang terdapat perairan Indonesia, termasuk family *Hydrocharitaceae* khususnya yaitu *Enhalus acoroides* (Kuo, 2007).

Pantai paciran terletak di kota Lamongan – Jawa Timur, terdapat lamun *Enhalus acoroides* yang mendominasi di pantai paciran. Perairan di pantai tersebut kurang bersih dan terjadi pencemaran limbah pabrik, limbah tempat Pelelangan Ikan, limbah rumah tangga yang dapat mengganggu bahkan merusak suatu ekosistem lamun, lamun yang akan terganggu akan bertahan hidup dengan memproduksi metabolit sekunder. Metabolit sekunder didapatkan pada tumbuhan yang mempunyai zat hijau daun (klorofil), dimana lamun *E. acoroides* termasuk tumbuhan yang memiliki zat hijau daun.

Jenis lamun *E. acoroides* memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku obat – obatan karena lamun memproduksi metabolit sekunder untuk

mempertahankan hidupnya dari radiasi sinar UV yang dapat memicu terjadinya oksidasi, senyawa yang dihasilkan oleh lamun saat memproduksi metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan steroid yang bersifat sebagai antibakteri (Anwariyah, 2011). Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Bakteri adalah sel prokariot yang bersifat uniseluler. Bakteri mempunyai banyak bentuk diantaranya bentuk bulat, batang, atau spiral (Pelczar dan Chan 2005). Beberapa jenis bakteri yang dapat menimbulkan penyakit diantaranya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada umumnya bakteri tersebut dikenal sebagai penyebab 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). *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri yang secara normal ditemukan dalam air tawar. Infeksi *A. hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stress, perubahan temperatur, air yang terkontaminasi dan ketika host tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder), oleh karena itu bakteri ini disebut dengan bakteri yang bersifat patogen oportunistik (Dooley *et al.* 1985). Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. *A. hydrophila* resisten terhadap chlorine serta suhu yang dingin dapat bertahan dalam temperatur rendah  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan (Krieg & Holt 1984).

Senyawa aktif pada lamun ini sangat banyak mengandung manfaat bagi manusia, khususnya dibidang kesehatan. Zat antibakteri dapat dimanfaatkan sebagai obat dalam penyembuhan berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

Kandungan senyawa antibakteri dapat ditemukan hampir disetiap tumbuhan baik yang berasal dari darat maupun dari perairan laut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Penyakit sebagian besar disebabkan oleh bakteri pathogen, salah satunya yaitu *A. hydrophila* yang termasuk salah satu dari bakteri gram negatif karena dapat menghasilkan eksotoksin dan endotoksin sebagai pertahanan dirinya, bakteri ini dapat menyebabkan bercak pada ikan air tawar. Bakteri pathogen yang lain seperti *S. aureus* merupakan salah satu dari bakteri gram positif yang dapat menyebabkan bisul, nanah, bahkan keracunan pada darah.

Lamun memiliki potensi untuk dimanfaatkan kandungan senyawa antibakterinya, salah satu diantaranya yaitu *E. acoroides* (Anwariyah, 2011) Namun, belum diketahui potensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka permasalahan yang ada dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Adakah senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak lamun *E. acoroides*?
2. Apakah ekstrak daun lamun *E. acoroides* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri jenis *A. hydrophila* dan *S. aureus* ?
3. Konsentrasi ekstrak daun lamun *E. acoroides* berapakah yang dapat membentuk zona hambat paling besar pada pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus*?
4. Pada waktu inkubasi berapa senyawa bioaktif yang ada pada daun lamun *E. acoroides* mulai dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* ?

5. Apakah senyawa yang ada pada ekstrak daun lamun *E. acoroides* bersifat bakteristatik / bakteriosidal terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui:

1. Melakukan uji senyawa bioaktif yang ada pada ekstrak daun lamun *E. acoroides*
2. Aktivitas atau potensi antibakteri pada ekstrak lamun *E. acoroides* yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat.
3. Nilai konsentrasi yang menunjukkan zona hambat terbesar dan terkecil pada bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus*.
4. Lama waktu inkubasi pertama kali zona hambat terbentuk
5. Sifat senyawa pada ekstrak daun lamun *E. acoroides*

### 1.4 Batasan Penelitian

Ruang lingkup pada penelitian ini meliputi proses ekstraksi, uji fitokimia dan uji aktifitas antibakteri pada ekstrak dari jenis lamun *E. acoroides* yang berasal dari pantai Paciran, Lamongan – Jawa Timur terhadap bakteri *S. aureus* dan *A. hydrophila*.

### 1.5 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian tentang uji aktifitas antibakteri ini adalah untuk memberikan informasi mengenai potensi senyawa pada ekstrak daun lamun jenis *E. acoroides* serta kemungkinan pemanfaatannya sebagai bahan alternatif yang ramah lingkungan dan tidak bersifat meningkatkan resistensi bakteri dalam pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri pathogen *A. hydrophila* dan *S. aureus*.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi *Cymodocea rotundata*

Lamun (Gambar 1) yang akan digunakan pada penelitian ini adalah jenis *E. acoroides*, dimana Menurut Waycott *et al.*, (2004) klasifikasi lamun *E. acoroides* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

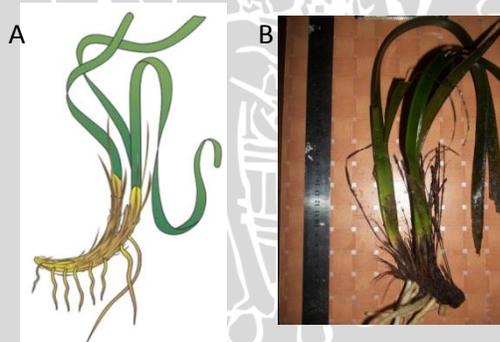
Class : Liliopsida

Order : Alismatales

Family : Hydrocharitaceae

Genus : *Enhalus*

Spesies : *Enhalus acoroides*



**Gambar 1.** A. *Enhalus acoroides* (Nurfadilah, 2013), B. *Enhalus acoroides* (Lapang)

*E. acoroides* merupakan jenis lamun yang memiliki daun yang lebih tebal, lebar dan panjang dari pada spesies lamun lainnya. Lamun jenis ini memiliki daun yang panjang dan lebar . Akar dari lamun tebal dengan diameter sekitar 1,5 cm dan tertutupi oleh bulu yang tebal berwarna gelap. Lamun *E. acoroides* memiliki perakaran yang kuat sehingga dapat berfungsi sebagai pengikat sedimen dan juga

dapat menyerap nutrisi yang terdapat di dalam substrat (Waycott *et al*, 2004). *E. acoroides* mempunyai akar rimpang, berwarna coklat muda dan putih pada bagian tunasnya. Daun berbentuk pita, tepi daun rata dan ujungnya tumpul. *E. acoroides* mempunyai senyawa yang bersifat sebagai antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, phenol, steroid dan tannin (Anwariyah, 2011).

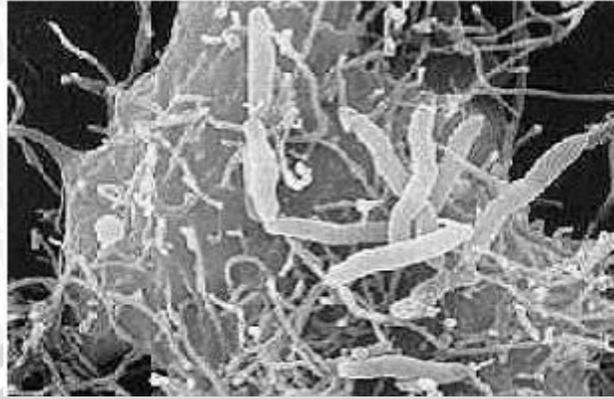
## 2.2 Bakteri

Bakteri merupakan suatu sel yang tidak memiliki membran inti (prokariotik) yang bersifat uniseluler, bakteri memiliki bentuk bulat, batang dan spiral (Pelczar dan Chan, 2005). Bakteri tersusun atas membran sitoplasma yang dapat mengendalikan keluar masuk benda asing ke dalam sel, bakteri memiliki dinding sel yang berfungsi melindungi dan memberi bentuk pada bakteri (Lay dan Hastowo, 1992).

### 2.2.1 *Aeromonas hydrophila*

*A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif (Krieg & Holt 1984). Bakteri ini menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) atau penyakit bercak merah pada berbagai jenis ikan air tawar lele dumbo, ikan mas, ikan gurami dan udang-udangan. Bakteri ini dapat menyerang berbagai jenis ikan air tawar yang dapat mengakibatkan kematian yang signifikan hingga 100% dalam waktu yang relatif cepat. Bakteri ini sulit untuk dikendalikan karena selalu di air dan resisten terhadap obat-obatan (Kamiso & Triyanto, 1993).

Klasifikasi *A. hydrophila* menurut Holt *et al.* (1994) adalah sebagai berikut:



**Gambar 2.** *Aeromonas hydrophila* (Hayes. 2000)

Kingdom : Eubacteria

Filum : Protophyta

Classis : Schizomycetes

Ordo: Pseudanonadeles

Familia : Vibrionaceae

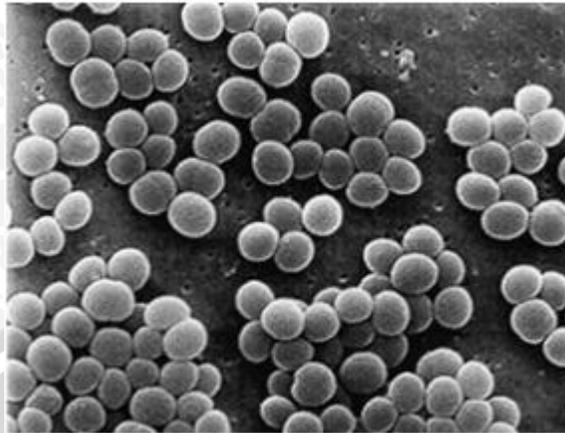
Genus: *Aeromonas*

Species : *Aeromonas hydrophila*

### 2.2.2 *Staphylococcus aureus*

*S. 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. *S. aureus* dapat menyebabkan beberapa macam kerugian yaitu menyebabkan makanan menjadi beracun, infeksi kulit dan luka, sehingga perlu diketahui senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ini (Kunkel, 1999).

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



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

Kingdom : Eubacteria

Divisio : Firmicutes

Classis : Bacilli

Ordo: Bacillales

Familia : Staphylococcaceae

Genus: *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus*

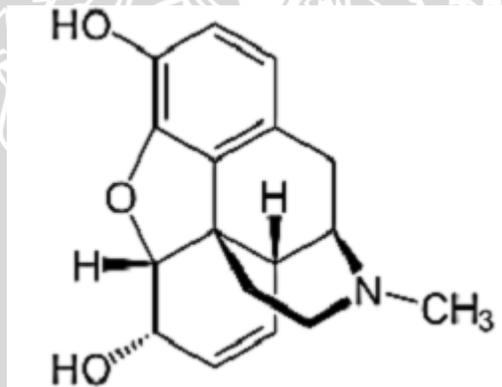
### 2.3 Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit adalah senyawa yang digolongkan berdasarkan biogenesisnya, artinya berdasarkan sumber bahan baku dan jalur biosintesisnya. Terdapat 2 jenis metabolit yaitu metabolit primer dan sekunder. Metabolit primer polisakarida, protein, lemak dan asam nukleat merupakan penyusun utama makhluk hidup, sedangkan metabolit sekunder meski tidak sangat penting bagi eksistensi suatu makhluk hidup tetapi sering berperan menghadapi spesies - spesies lain. Misalnya zat kimia untuk pertahanan, penarik seks dan feromon (Manitto, 1981).

Metabolit sekunder didefinisikan sebagai senyawa yang disintesis oleh organisme (mikroba, tumbuhan, insektisida dan sebagainya), tidak untuk memenuhi kebutuhan primernya (tumbuh dan berkembang) melainkan untuk mempertahankan eksistensinya dalam berinteraksi dengan lingkungannya (Sumaryono,1999). Beberapa kelompok metabolit sekunder yang dihasilkan dari metabolisme sekunder pada tumbuhan antara lain : alkaloid, tannin, saponin, triterpenoid dan flavonoid.

### 2.3.1 Alkaloid

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



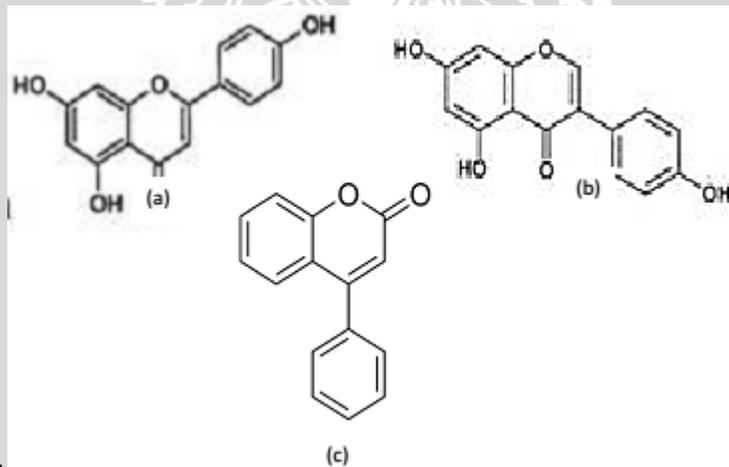
Gambar 4. Alkaloid (Darwis, 2001)

Bioaktif jenis alkaloid ini umumnya larut pada pelarut organik nonpolar, akan tetapi ada beberapa kelompok seperti pseudoalkaloid dan protoalkaloid yang larut pada pelarut polar seperti air. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa. Alkaloid biasanya dalam kadar kecil dan harus dipisahkan dari senyawa rumit yang berasal dari bagian tumbuhan (Lenny, 2006).

### 2.3.2 Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol, termasuk larutan ekstrak yang mengandung komponen flavonoid jadi akan berubah warna jika diberi larutan basa atau ammonia (Agestia, 2009). Flavonoid merupakan golongan fenol yang terbesar yang ditemukan di alam (Lenny, 2006).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman yang berklorofil. Jenis senyawa flavonoid banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (Angiospermae) diantaranya flavon dan flavenol dengan C- dan O-glikosida, isoflavon C- dan O-glikosida, flavanon C- dan C- glikosida. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai senyawa bioaktivitas sebagai obat (Agestia, 2009).



Gambar 5. Flavonoid (Agestia, 2009)

### 2.3.3 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid merupakan senyawa tanpa warna, berbentuk kristal,

mempunyai titik leleh yang tinggi dan pada umumnya sukar dicirikan karena tak ada ke reaktifan kimianya. Triterpenoid digolongkan menjadi empat golongan, yaitu triterpena sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida (Harborne, 1987).

Steroid adalah molekul kompleks yang larut di dalam lemak dengan empat cincin yang saling bergabung. Steroid yang paling banyak adalah sterol yang merupakan steroid alcohol. Kolesterol merupakan sterol utama pada jaringan hewan. Kolesterol dan senyawa turunan esternya, dengan lemaknya yang berantai panjang adalah komponen penting dari plasma lipoprotein dan dari membran sel sebelah luar. Membran sel tumbuhan mengandung jenis sterol lain terutama stigmasterol yang berbeda dari kolesterol hanya dalam ikatan ganda di antara karbon 22 dan 23 (Lehninger, 1982).

#### **2.3.4 Saponin**

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Glikon bersifat mudah larut dalam air dan glikosida-glikosida mempunyai tegangan permukaan yang kuat. Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan (Harborne, 1987).

Saponin dapat menyebabkan hidrolisis pada sel darah. Saponin yang paling penting adalah hesogenin. Hesogenin mempunyai gugus keton pada C12 yang dapat ditransportasikan ke C11 membentuk 11-keto tigogenin yang dapat diubah menjadi kortison. Saponin jauh lebih polar daripada saponin

karena ikatan glikosidanya dan lebih mudah dipisahkan dengan kromatografi kertas atau kromatografi lapis tipis selulosa (Suradikusumah, 1989).

### **2.3.5 Tanin**

Senyawa tanin merupakan komponen zat organik glikosida yang terdapat dalam bermacam-macam tumbuhan, terutama tumbuhan berkeping dua (dikotil). Ekstrak tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol yang sangat kompleks dan biasanya bergabung dengan karbohidrat rendah (Linggawati et al., 2002 dalam Nurfadhillah, 2013).

Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat membentuk polifenol yang membentuk senyawa kompleks yang tidak larut dengan protein. Senyawa ini terdapat pada berbagai jenis tanaman yang digunakan baik untuk bahan pangan maupun pakan ternak (Anwariyah, 2011).

## **2.4 Proses Uji**

### **2.4.1 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penyarian senyawa bioaktif dari bagian tanaman, obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Harborne, 1987).

Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik komponen senyawa kimia yang terdapat pada suatu bahan. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa senyawa ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan terluar kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks dan

penyulingan uap air dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi, perkolasi dan alat soxhlet (Dirjen POM, 1986).

#### **2.4.2 Skrining Fitokimia**

Fitokimia merupakan ilmu yang menguraikan aspek senyawa kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian tentang isolasi dan ikatan senyawa kimia dalam tanaman, perbandingan struktur senyawa kimia tanaman dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman atau penelitian untuk pengembangan senyawa kimia dalam tanaman (Sirait, 2007).

Kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom dan uji fitokimia adalah beberapa metode yang dapat dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada tanaman. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia yang dapat membantu untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman. Secara umum dapat dikatakan bahwa sebagian besar metodenya merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna (Kristanti *et al*, 2008). Skrining fitokimia merupakan salah satu uji kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman dengan menggunakan metode dari Harbone (1987).

#### **2.4.3 Uji Aktivitas Antibakteri**

Menurut Lalitha (2004), Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode Difusi Lempeng Agar pada bakteri uji *S. aureus* dan sebagai kontrol positif menggunakan kloramfenikol dengan pengulangan dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali. Daerah hambatan yang terbentuk merupakan daerah bening di sekitar kertas cakram, yang menunjukkan bakteri patogen yang diuji telah dihambat oleh senyawa antimikroba yang berdifusi ke dalam agar dari kertas cakram.

Beberapa bahan aktif yang berfungsi sebagai bahan antimikroba yang terdapat dalam tumbuhan lamun diantaranya flavonoid, saponin, diterpenoid, triterpenoid, fenolik dan tannin. Mekanisme kerja bahan aktif dalam mematikan bakteri dilakukan dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel. Senyawa ini mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim, enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme dan kondisi ini pada akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri (Astuty, 1997).



### 3. METODOLOGI

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2015. Lokasi pengambilan sampel daun lamun *E. acoroides* yaitu pantai paciran, Lamongan - Jawa Timur. Proses ekstraksi daun lamun dilakukan di laboratorium mikrobiologi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan uji fitokimia dilaksanakan di Laboratorium biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, sedangkan peremajaan bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* serta pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.



Gambar 6. Peta lokasi pengambilan sampel lamun.

### 3.2 Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam Penelitian ini adalah daun lamun *E. acoroides* yang dikumpulkan dari pantai Paciran, Lamongan pada bulan Februari 2014 yang diekstraksi, uji fitokimia dan diuji antibakterin. Bakteri uji *A. hydrophila* dan *S. aureus* didapatkan dari Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

### 3.3 Alat dan Bahan

Pada Penelitian ini, kegiatan yang dilakukan meliputi ekstraksi lamun yang terdiri dari maserasi, filtrasi dan evaporasi. Uji aktivitas antibakteri terdiri dari sterilisasi alat, pembuatan media agar, peremajaan kultur koloni bakteri, pembuatan suspensi bakteri uji, dan uji daya hambat.

#### 3.3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam proses ekstraksi lamun, uji fitokimia dan pengujian antibakteri antara lain Autoklaf, Beaker glass dan blander. Selanjutnya alat yang digunakan dalam penelitian ini dapat di lihat pada Lampiran 1.

#### 3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi lamun, uji fitokimia dan pengujian antibakteri antara lain bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus*. Secara detail bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Lampiran 2.

### 3.4 Metode Penelitian

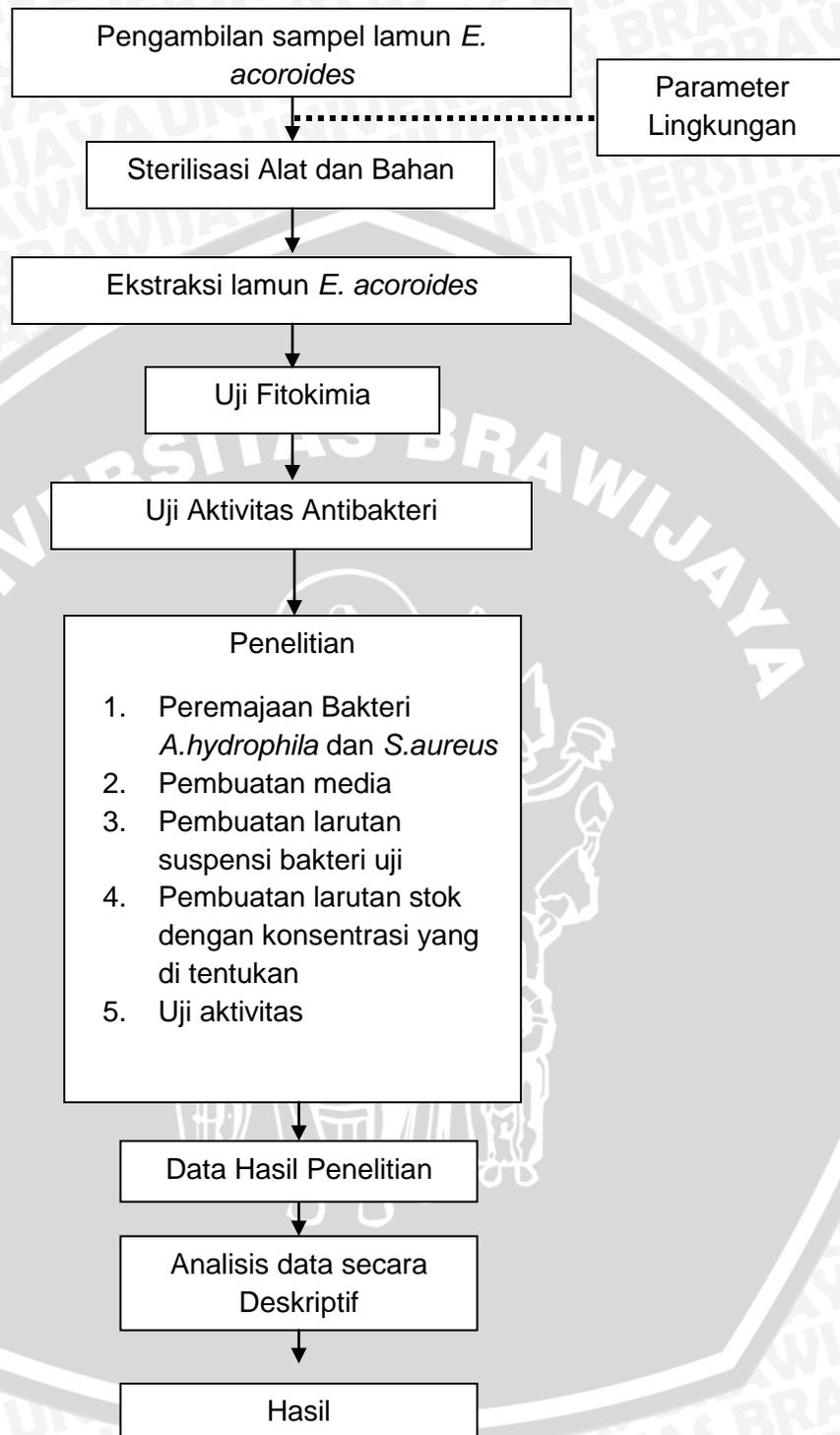
Metode yang digunakan dalam Penelitian ini adalah *eksperimental laboratory* yang dilakukan secara *in vitro* menggunakan uji antibakteri metode cakram. Metode eksperimental adalah kegiatan penelitian yang berusaha mencari pengaruh variabel

tertentu terhadap variabel lain dengan kontrol yang ketat (Sedarmayanti dan Hidayat, 2002). Tujuan umum penelitian eksperimen adalah untuk meneliti pengaruh suatu perlakuan tertentu terhadap gejala sesuatu kelompok tertentu sebanding dengan kelompok lain yang menggunakan perlakuan yang berbeda (Nazir, 1989). *Experimental laboratory* yang dilakukan dalam Penelitian meliputi ekstraksi lamun, uji fitokimia dan uji aktivitas antibakteri.

### 3.5 Prosedur Penelitian

Pada prosedur penelitian tentang uji aktifitas antibakteri ekstrak lamun *E. acoroides* terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus*, yang terdiri dari proses ekstraksi lamun *E. acoroides*, uji fitokimia dan uji aktivitas antibakteri, disajikan pada Gambar 7.





**Gambar 7.** Prosedur Penelitian

### 3.5.1 Ekstraksi Lamun

Menurut Abeysinghe (2006), proses ekstraksi lamun *Enhalus acoroides* dengan metode maserasi yang dilakukan dengan menggunakan methanol PA sebagai pelarut polar pada ekstraksi dan dapat dijabarkan sebagai berikut :

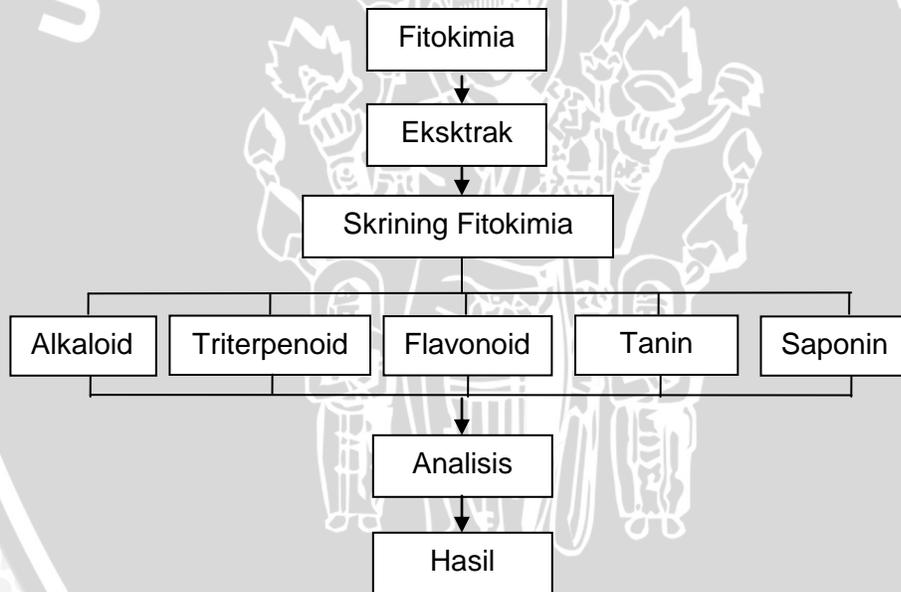
1. Lamun yang akan diekstrak terlebih dahulu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, epifit dan pasir.
2. Sampel lamun dijemur di bawah sinar matahari sampai kering.
3. Sampel lamun yang sudah kering dicacah halus kemudian diblender agar lebih halus
4. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 2 x 24 jam pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut metanol PA agar dapat menyerap semua senyawa yang ada pada ekstrak *E. acoroides* metanol PA termasuk pelarut polar, dengan perbandingan 1:8 sampel 50 gram dan pelarut hingga sampel terendam.
5. Hasil perendaman disaring menggunakan kertas saring Whatman no 1.
6. Pelarut organik diuapkan dengan menggunakan *rotavapor* sampai diperoleh ekstrak kasar lamun
7. Ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan disimpan di *freezer* (-20<sup>0</sup>C) sampai akan digunakan untuk pengujian.
8. Ekstrak kasar lamun kemudian ditimbang agar dapat diketahui prosentase rendemen yang diperoleh. Hasil dari rendeman dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

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

Hasil dari penelitian Abeysinghe (2006) tentang ekstraksi lamun *E. acoroides* dengan menggunakan pelarut metanol, didapatkan rendeman sebesar 6%, karena pada berat ekstrak yang dihasilkan pada proses ekstraksi sebanyak 3 gr dari berat kering 50 gr yang di rendam pada 400 ml larutan metanol.

### 3.5.2 Uji Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan salah satu uji kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu organisme menggunakan metode dari Harbone (1987). Terdapat 6 golongan senyawa yang akan diketahui pada uji fitokimia. Prosedur uji fitokimia disajikan pada Gambar 7.



**Gambar 8.** Prosedur Uji Fitokimia

Penelitian Dewi (2013) menyebutkan bahwa lamun *E. acoroides* terdapat senyawa pada proses uji fitokimia dengan menggunakan ekstrak lamun tersebut dimana senyawa yang didapatkan yaitu senyawa alkaloid, tanin, dan flavonoid, dengan sampel lamun yang diambil dari pulau pramuka kawasan DKI Jakarta.

### 3.5.2.1 Alkaloid

Tahap – tahap uji alkaloid pada proses uji fitokimia dan kategori tolak ukur uji fitokimia secara visual yaitu larutkan 0,05 gr ekstrak lamun ke dalam 10 tetes asam sulfat 2N, kemudian uji dengan pereaksi alkaloid yaitu meyer, tambahkan 6 tetes pereaksi meyer (positif, jika membentuk endapan putih ).

**Tabel 1.** Standar kategori senyawa alkaloid pada uji fitokimia.

No	Kategori	Keterangan
1	Kuat (+++)	Terlihat adanya pembentukan endapan putih dengan ketebalan 0,3 -0,5 cm
2	Sedang (++)	Terlihat adanya pembentukan endapan putih dengan ketebalan 0,1-0,3 cm
3	Lemah (+)	Terlihat adanya pembentukan endapan putih dengan ketebalan 0-0,1 cm
4	Tidak Terdeteksi (-)	Tidak terdapat pembentukan endapan putih.

### 3.5.2.2 Tanin

Tahap - tahap uji Tanin pada proses uji fitokimia dan kategori tolak ukur uji fitokimia secara visual yaitu larutkan 0,05 gr sampel kedalam air panas yang telah mendidih selama 3 menit, kemudian sampel disaring, setelah itu ditetesi dengan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil uji positif jika larutan berwarna biru tua atau hijau kehitaman.

**Tabel 2.** Standar kategori senyawa tanin pada uji fitokimia.

No	Kategori	Keterangan
1	Kuat (+++)	Terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji ke warna biru tua / hijau tua.
2	Sedang (++)	Terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji ke warna degradasi biru tua / hijau tua.
3	Lemah (+)	Terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji ke warna biru muda / hijau muda.
4	Tidak Terdeteksi (-)	Tidak terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji.

### 3.5.2.3 Triterpenoid

Tahap – tahap uji Triterpenoid pada proses uji fitokimia dan kategori tolak ukur uji fitokimia secara visual yaitu larutkan 0,5 gram sampel dengan ditambahkan 2 ml kloroform, kemudian ditambah 3 ml asam sulfat ditambahkan secara perlahan sampai terbentuk lapisan berwarna. Warna merah kecoklatan menunjukkan positif triterpenoid.

**Tabel 3.** Standar kategori senyawa triterpenoid pada uji fitokimia.

No	Kategori	Keterangan
1	Kuat (+++)	Terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji ke warna merah kecoklatan
2	Sedang (++)	Terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji ke warna merah maron.
3	Lemah (+)	Terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji ke warna merah.
4	Tidak Terdeteksi (-)	Tidak terlihat adanya perubahan warna dari warna dasar sampel uji.

### 3.5.2.4 Flavonoid

Tahap – tahap uji Flavonoid pada proses uji fitokimia dan tolak ukur uji fitokimia secara visual yaitu tambahkan bubuk magnesium (Mg) sebanyak 0,1 mg kedalam 0,05 gr ekstrak lamun, tambahkan larutan sulphuric acid sebanyak 0,4 ml, tambahkan etanol absolut sebanyak 4 ml, kemudian dikocok ± selama 5 menit, uji flavonoid positif jika larutan membentuk lapisan amil alkohol dengan warna merah, kuning, atau jingga.

**Tabel 4.** Standar kategori senyawa flavonoid pada uji fitokimia.

No	Kategori	Keterangan
1	Kuat (+++)	Terdapat lapisan yang berwarna merah/ kuning / jingga (dengan skor 7-10)
2	Sedang (++)	Terdapat lapisan yang berwarna degradasi warna merah/ kuning / jingga (dengan skor 4-7)
3	Lemah (+)	Terdapat lapisan yang berwarna merah mudah/ kuning / jingga (dengan skor 1-4)
4	Tidak Terdeteksi (-)	Tidak terdapat lapisan yang berwarna merah/ kuning / jingga

### 3.5.2.5 Saponin

Tahap – tahap uji Saponin pada proses uji fitokimia dengan kategori tolak ukur yaitu larutkan 0,05 gr ekstrak lamun dengan 2 ml aquades, dipanaskan sampai mendidih, kemudian dikocok larutan selama  $\pm$  10 detik, Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm, ditunggu hingga 10 menit tambahkan 1 tetes HCl 2N. Uji saponin positif jika larutan mampu mempertahankan busa.

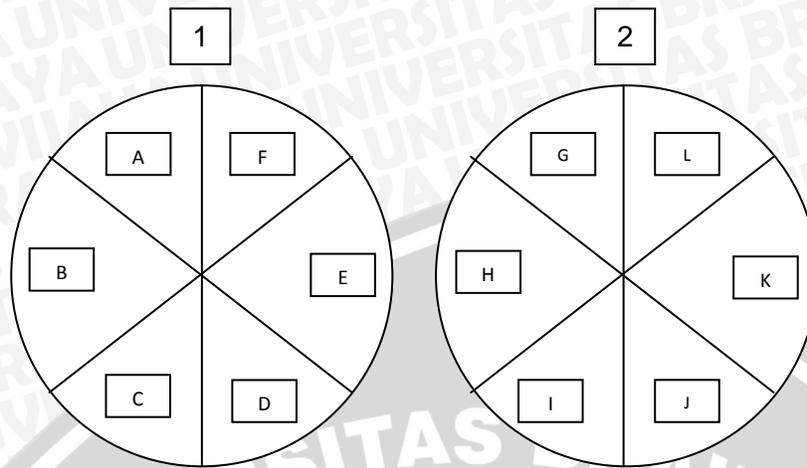
**Tabel 5.** Standar kategori senyawa saponin pada uji fitokimia.

No	Kategori	Keterangan
1	Kuat (+++)	Terdapat busa / gelembung dengan tinggi 7-10 cm pada sampel uji.
2	Sedang (++)	Terdapat busa / gelembung dengan tinggi 3-7 cm pada sampel uji.
3	Lemah (+)	Terdapat busa / gelembung dengan tinggi 1-3 cm pada sampel uji
4	Tidak Terdeteksi (-)	Tidak terdapat busa / gelembung pada sampel uji.

### 3.6 Desain Penelitian Pendahuluan Uji aktivitas antibakteri

Penelitian ini dirancang dengan desain penelitian terdahulu, setiap cawan petri terdiri dari 6 kertas cakram dengan diameter sebesar 5 mm, setiap kertas cakram direndam dalam 6 larutan sesuai perlakuan. Untuk lebih jelasnya lihat rancangan penelitian. Disajikan pada Gambar 8.

Ekstrak daun lamun *E. acoroides*, sedangkan spesies bakteri terdiri dari *A. hydrophila* dan *S. aureus*. Setiap pengulangan terdiri dari 3 cawan petri. Pada penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Lebih jelasnya desain penelitian di sajikan pada Gambar 8.



**Gambar 9.** Penempatan Kertas Cakram pada media NA (1) *A.hydrophila* ;(2) *S.aureus*

Keterangan :

- A / G : Konsentrasi Ekstrak 60 ppm
- B / H : Konsentrasi Ekstrak 80 ppm
- C / I : Konsentrasi Ekstrak 100 ppm
- D / J : Konsentrasi Ekstrak 120 ppm
- E / K : kloramfenikol 200 ppm
- F / L : Aquades

Pada penelitian ini terdapat dua variable yaitu spesies lamun (*E. acoroides*) dan konsentrasi ekstrak (60, 80, 100 dan 120 ppm), ditambahkan kontrol positif yaitu Kloramfenikol 200 ppm, dan kontrol negatif yaitu Aquades. Pada Tabel 1 digambarkan secara rinci untuk kelompok bakteri .

**Tabel 6.** Rancangan Penelitian *Aeromonas hydrophila*

No	Konsentrasi	Ulangan		
		1	2	3
1	60 ppm (A)	A1	A2	A3
2	80 ppm (B)	B1	B2	B3
3	100 ppm (C)	C1	C2	C3
4	120 ppm (D)	D1	D2	D3
5	Kloramfenikol (E)	E1	E2	E3
6	Aquades (F)	F1	F2	F3

Pada Tabel 2 menggambarkan rancangan penelitian *S. aureus*, terdapat 2 variabel yaitu spesies lamun (*E. acoroides*) dan konsentrasi ekstrak (60, 80, 100 dan 120 ppm), ditambahkan kontrol positif yaitu Kloramfenikol 200 ppm, dan kontrol negatif yaitu Aquades PA.

**Tabel 7.** Rancangan Penelitian *Staphylococcus aureus*

No	Ulangan			
	Konsentrasi	1	2	3
1	60 ppm(G)	G1	G2	G3
2	80 ppm (H)	H1	H2	H3
3	100 ppm (I)	I1	I2	I3
4	120 ppm (J)	J1	J2	J3
5	Kloramfenikol (K)	K1	K2	K3
6	Aquades (L)	L1	L2	L3

### 3.6.1 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 (Suriawiria, 1995).

### 3.6.2 Pembuatan Media Agar NA ( *Nutrien Agar* )

Pembuatan media agar dilakukan dengan memasukkan NA (*Nutrien Agar*) sebanyak 1.84 gr ke dalam tabung erlenmeyer, lalu ditambahkan aquades 80 ml aquades. Campuran dipanaskan diatas kompor hingga mendidih. NA yang sudah homogen dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm atau 0,15 Mpa selama 15 menit (Nurfadilah 2013).

### 3.6.3 Peremajaan Bakteri dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Peremajaan bakteri merupakan tahap penambahan bakteri dalam agar miring. Peremajaan bakteri menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) sebagai berikut :

1. Media NA 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.

### 3.6.4 Pembuatan Larutan Suspensi Bakteri Uji

Larutan suspensi berfungsi untuk menyesuaikan konsentrasi bakteri yang akan ditanam untuk diuji daya hambat terhadap ekstrak daun mangrove sesuai dengan larutan standard Mc Farland dengan konsentrasi  $10^5$ - $10^7$  CFU/ml. Menurut Victor (1980), komposisi larutan Mc Farland yaitu  $H_2SO_4$  0,36N sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan  $BaCl \cdot 2.2H_2O$  1,175% sebanyak 0,5 ml dalam erlenmeyer, kemudian dihomogenkan sampai terbentuk kekeruhan tertentu. Larutan ini umum digunakan sebagai standard kekeruhan suspensi bakteri uji. Kultur bakteri dilakukan dengan mengambil beberapa koloni bakteri hasil peremajaan. Beberapa koloni bakteri tersebut dipindahkan dengan menggosokkan 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  $10^5$ - $10^7$  sel bakteri untuk mengetahui kepadatannya (Trianto *et al*, 2004).

### 3.6.5 Uji Antibakteri dengan Metode Cakram

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode cakram dengan kertas cakram. NA (*Nutrien Agar*) dalam bentuk serbuk dilarutkan dalam aquades, kemudian dipanaskan dan diaduk sampai larut. Media agar disterilkan di autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^\circ\text{C}$ . Media agar didinginkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat pada suhu kamar. Bakteri uji dari larutan kultur diinokulasikan dengan *cotton swab* di atas media NA, dan pada tahap pengenceran ekstrak dilarutkan dengan larutan DMSO 10% agar ekstrak dapat dilarutkan. Dimana DMSO ini tidak dapat mempengaruhi larutan konsentrasi dan hanya sebagai pengencer (Peoloengan, 2006). Ekstrak lamun dengan konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm dan 120 ppm dimasukkan pada kertas cakram dengan cara direndam, untuk kontrol negatif digunakan pelarut metanol yang sama padasaat 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 Kloramfenikol (200 ppm) yang bersifat sebagai antibakteri (Nurfadilah, 2013). kertas cakram yang berdiameter 5 mm diletakkan secara aseptik di atas media agar yang kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 jam. Pengamatan dilakukan 48 jam (selang waktu 6 jam) dengan modifikasi penelitian terdahulu Dewi (2013) yaitu selang waktu 12 jam dan pengukuran diameter zona hambatan yang terbentuk (Riniatsih dan Setyati, 2009).

### 3.7 Perhitungan Zona Hambat

Perhitungan zona hambat kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram. Pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk dapat menggunakan jangka sorong, nilai zona hambat didapatkan dari selisih diameter zona hambat dan diameter kertas cakram. Menurut Oktavianus (2013), jika nilai zona hambat yang dihasilkan mendekati atau melebihi nilai zona hambat dari kontrol positif maka ekstrak berpotensi sebagai antibakteri.

### 3.8 Analisa Data

Data-data yang diperoleh dari penelitian ini, pada saat di lapang dan di laboratorium berupa parameter lingkungan, senyawa bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak, diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi ekstrak dan lama waktu inkubasi akan dianalisis secara deskriptif.

## 4. PEMBAHASAN

### 4.1 Parameter Lingkungan

Pada penelitian di daerah Pantai Paciran Lamongan – Jawa Timur, dapat diperoleh data lapang sebagai data pendukung pada penelitian ini yaitu data parameter lingkungan diantaranya Suhu, Salinitas, pH dan DO ( *Dissolve Oxygen* ) dapat di lihat pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Data Parameter Lingkungan

No	Parameter	Hasil Lapang	Baku Mutu
1	Suhu (°C)	31,6°	28-30°
2	Salinitas (ppm)	30	33 – 34
3	pH	7,4	7 – 8,5
4	DO (mg/L)	5,4	>5

Suhu di Pantai Paciran yaitu 31.6°C, karena lamongan termasuk kota padat akan penduduk, memiliki banyak industry dan memasuki musim kemarau, kondisi ini memperlihatkan bahwa suhu perairan di Pantai Paciran melebihi batas baku mutu yang telah ditetapkan. Suhu yang baik untuk mengontrol produktivitas padang lamun pada perairan adalah sekitar 20-30°C (Poedjirahajoe, 2013). Salinitas di Pantai Paciran adalah 30 ppt, masih dikategorikan dalam selang toleransi pertumbuhan dan perkembangan lamun, karena lamun akan tumbuh dan berkembang dengan optimal pada perairan dengan salinitas 24 – 35 ppt (Hilman *et al*, 1989). Data lapang yang tidak sesuai baku mutu yaitu suhu dan salinitas diantaranya 31.6°C dan 30 ppt, pada data lapang yang diperoleh mengakibatkan terganggu ekosistem lamun yang dapat menghambat / memperlambat pertumbuhan lamun, sehingga dengan kondisi yang tidak sesuai dengan lamun, lamun akan memproduksi senyawa metabolit sekunder,

dimana metabolit sekunder memproduksi senyawa diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Metabolit sekunder diproduksi untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang tidak sesuai dengan baku mutu dan mikroba yang ada di ekosistem lamun. Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi organisme dan ditemukan dalam bentuk yang berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan (Rasyid, 2012).

Menurut Poedjirahajoe (2013) kadar oksigen dalam air laut akan bertambah dengan semakin rendahnya suhu maka nilai salinitas rendah. Pada lapisan permukaan, kadar oksigen akan lebih tinggi, karena adanya proses difusi antara air dengan udara bebas serta adanya proses fotosintesis. Berdasarkan data suhu dan DO menunjukkan hubungan bahwa meskipun suhu tinggi, nilai DO tetap tinggi karena adanya aktifitas fotosintesis dari lamun itu sendiri dan jarang biota laut yang ada di Pantai Paciran, Lamongan.

#### 4.2 Hasil Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa zat aktif suatu bahan dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh senyawa tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif (Kristanti *et al*, 2008). Proses ekstraksi yang dilakukan pada Penelitian ini yaitu maserasi, filtrasi dan evaporasi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut polar dengan menggunakan metanol PA.

Ekstrak kasar yang dihasilkan dari proses evaporasi berwarna hitam kehijauan dan berat ekstrak yang didapatkan pada saat evaporasi yaitu 3,12 gr. Ekstrak dari pelarut metanol PA ini berbentuk pasta dan memiliki aroma khas. Hasil

ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dengan menggunakan pelarut polar yaitu metanol dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 10.** Ekstrak *Enhalus acoroides*

#### 4.2.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan jumlah sampel awal yang diekstrak dan hasilnya dinyatakan dalam persen. Rendemen ekstrak kasar lamun jenis *Enhalus acoroides* dengan pelarut metanol PA adalah 6,24 %.

#### 4.3 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terdapat pada lamun *E. acoroides*. Uji fitokimia yang dilakukan dalam Penelitian ini meliputi uji alkaloid, tanin, triterpenoid, flavonoid dan saponin. Hasil uji fitokimia ekstrak lamun *E. acoroides* dapat dilihat pada Tabel 9 sedangkan standar kategori senyawa yang terdeteksi, disajikan pada Tabel 1 – 5.

**Tabel 9.** Hasil uji fitokimia ekstrak lamun *Enhalus acoroides*

No	Komponen Senyawa		Keterangan
1	Alkaloid	++	Tebentuk endapan putih
2	Flavonoid	+	Larutan Berubah warna menjadi kuning agak jingga

3	Saponin	+	Terbentuk busa
4	Tanin	++	Larutan tidak berubah menjadi biru atau hijau kehitaman
5	Triterpenoid	-	Larutan tidak berubah menjadi merah kecoklatan

Kategori : Kuat : +++      Sedang : ++  
 Lemah : +      Tidak terdeteksi : -

Kondisi lingkungan yang buruk berpengaruh terhadap produksi metabolit sekunder pada organisme. Pada kondisi lingkungan yang buruk lamun akan mengeluarkan metabolit sekundernya untuk bertahan hidup. Selain kondisi lingkungan yang buruk produksi metabolit sekunder dipengaruhi pula oleh organisme asosiasi, seperti ancaman predator, makro dan mikroorganisme patogen, kompetisi ruang dan makanan (Dewi, 2013). Faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi stabilitas senyawa aktif yaitu suhu, radiasi cahaya, pH, salinitas dan keberadaan bahan kimia lain yang merupakan kontaminan sehingga mampu mempengaruhi stabilitas sediaan bahan senyawa bioaktif (Nurfadilah, 2013).

#### 4.4 Uji Aktifitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode cakram dengan kertas cakram. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* yang diambil dari isolat bakteri koleksi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Peremajaan bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* dilakukan dengan menggunakan media NA (Nutrien Agar), bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* akan membentuk koloni berwarna putih pada media tersebut.

##### 4.4.1 Konsentrasi Ekstrak lamun *E. acoroides* terhadap *A. hydrophila* dan *S. aureus*

Ekstrak *E. acoroides* yang diuji terhadap *A. hydrophila* untuk mengetahui zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yang paling besar dihasilkan oleh

konsentrasi kontrol positif terhadap bakteri *A. hydrophila* yaitu 8,53 mm pada waktu inkubasi 30 jam dan zona hambat pada jam berikutnya tidak bertambah besar, diduga konsentrasi kontrol positif dapat membunuh bakteri *A. hydrophila* dan efek dari kontrol positif sudah habis/tidak dapat membunuh bakteri tersebut, sedangkan pada konsentrasi ekstrak pada interval 6 jam sampai 24 jam zona hambat paling besar dihasilkan oleh konsentrasi 120 ppm terhadap bakteri *A. hydrophila* yaitu 6,40 mm. Zona hambat paling kecil dihasilkan oleh konsentrasi 120 ppm dengan waktu inkubasi 18 jam terhadap bakteri *A. hydrophila* yaitu 0 mm, karena pada waktu inkubasi 18 jam konsentrasi 120 ppm tidak menunjukkan adanya zona hambat diduga senyawa pada konsentrasi tersebut belum bereaksi/aktif untuk menghambat bakteri *A. hydrophila*. Pada konsentrasi ekstrak dengan interval 30 jam sampai 48 jam zona hambat paling besar dihasilkan oleh konsentrasi 120 ppm yaitu 6,73 mm pada waktu inkubasi 30 jam membentuk zona hambat paling besar dan terjadi penurunan pada jam-jam berikutnya, karena pada waktu itu diduga ekstrak lamun *E. acoroides* senyawa antibakteri semakin sedikit dan mulai fase meningkatnya pertumbuhan bakteri. Hasil uji aktifitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 10.

Pada Tabel 11 dapat dijelaskan bahwa ekstrak *E. acoroides* yang diuji terhadap *S. aureus* untuk mengetahui zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yang paling besar dihasilkan oleh konsentrasi kontrol positif pada waktu inkubasi 30 jam terhadap bakteri *S. aureus* yaitu 8,10 mm dan zona hambat pada jam berikutnya tidak bertambah besar, diduga konsentrasi kontrol positif dapat membunuh bakteri *S. aureus* dan efek dari kontrol positif sudah habis/tidak dapat membunuh bakteri tersebut, sedangkan pada konsentrasi ekstrak pada interval 6 jam sampai 24 jam zona hambat paling besar dihasilkan oleh konsentrasi 120 ppm terhadap bakteri *S. aureus* yaitu 6,47 mm. Zona hambat paling kecil dihasilkan oleh semua konsentrasi

pada waktu inkubasi 6 jam dan 12 jam, karena tidak menunjukkan zona hambat, diduga senyawa pada konsentrasi tersebut belum bereaksi/aktif untuk menghambat bakteri *S. aureus*. Pada konsentrasi ekstrak dengan interval 30 jam sampai 48 jam zona hambat paling besar dihasilkan oleh konsentrasi 120 ppm yaitu 6,83 mm pada waktu inkubasi 30 jam dan terjadi penurunan pada jam berikutnya, karena pada waktu itu diduga ekstrak lamun *E. acoroides* senyawa antibakteri semakin sedikit dan mulai fase meningkatnya pertumbuhan bakteri.

#### 4.4.2 Waktu Pengamatan Uji Aktifitas Antibakteri

Pengamatan pada penelitian ini dilakukan selama 48 jam dengan jeda waktu 6 jam. Waktu pengamatan pertama kali munculnya zona hambat dan waktu pengamatan yang tepat untuk pengamatan aktifitas antibakteri yaitu waktu inkubasi 18 jam dan 24 jam, pada inkubasi 18 jam terjadi zona hambat tetapi ada konsentrasi yang tidak / belum bisa menunjukkan adanya aktifitas antibakteri / zona hambat dan muncul pertama kali zona hambat pada 18 jam waktu inkubasi, sedangkan 24 jam semua konsentrasi sudah menunjukkan zona hambatnya. Waktu pengamatan pada penelitian ini merupakan modifikasi dari penelitian terdahulu dengan waktu pengamatan setiap 12 jam selama 48 jam, hasil dari penelitian Dewi (2013) terjadinya zona hambat pada waktu pengamatan yang bagus yaitu waktu inkubasi 24 jam, hasil dari pengamatan zona hambat dapat dilihat pada Tabel 10 dan 11.

**Tabel 10.** Hasil uji aktifitas antibakteri *A. hydrophila*

No	Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Inkubasi							
			6 jam	12 jam	18 jam	24 jam	30 jam	36 jam	42 jam	48 jam
			<i>A. hydrophila</i>							
Diameter zona hambat (mm)										
1	<i>E. acoroides</i>	60	0	0	5,70±0,06	5,93±0,05	6,07±0,07	5,47±0,05	0	0
2		80	0	0	6,13±0,04	6,27±0,07	6,43±0,07	5,90±0,03	0	0
3		100	0	0	5,67±0,16	6,40±0,07	6,53±0,04	5,53±0,05	0	0
4		120	0	0	0	6,40±0,12	6,73±0,14	6,23±0,08	0	0
5	Kloramfenikol 200		0	0	8,20±0,15	8,43±0,13	8,53±0,10	8,53±0,10	8,53±0,10	8,53±0,10
6	Aquades		0	0	0	0	0	0	0	0

**Tabel 11.** Hasil uji aktifitas antibakteri *S. aureus*

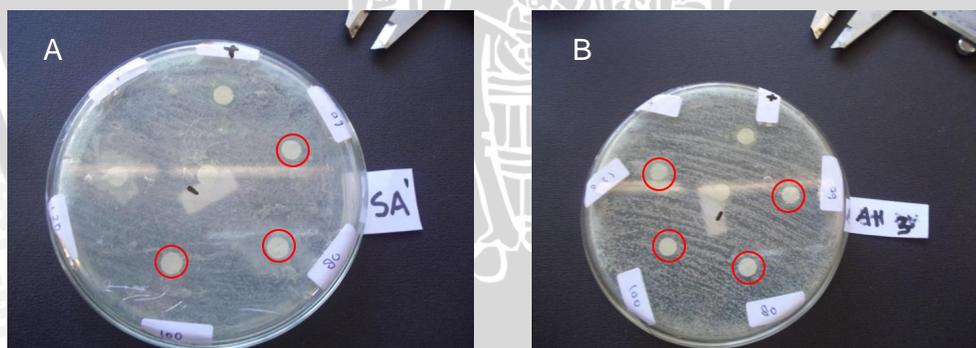
No	Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Inkubasi							
			6 jam	12 jam	18 jam	24 jam	30 jam	36 jam	42 jam	48 jam
			<i>S. aureus</i>							
Diameter zona hambat (mm)										
1	<i>E. acoroides</i>	60	0	0	6,10±0,03	6,27±0,2	6,37±0,02	6,07±0,02	0	0
2		80	0	0	6,30±0	6,50±0	6,57±0,02	6,20±0	0	0
3		100	0	0	5,87±0,20	6,43±0,08	6,70±0,06	6,27±0,02	0	0
4		120	0	0	5,80±0,18	6,47±0,07	6,83±0,07	6,47±0,04	0	0
5	Kloramfenikol 200		0	0	7,37±0,11	7,67±0,16	8,10±0,17	8,10±0,17	8,10±0,17	8,10±0,17
6	Aquades		0	0	0	0	0	0	0	0

Keterangan:

- Nilai di atas adalah rata – rata ± SD (n=3)
- Zona hambat belum dikurangi diameter kertas cakram (5mm)

Uji aktifitas antibakteri ekstrak lamun *E. acoroides* menunjukkan adanya zona hambat sebagai indikator adanya daerah hambatan. Hal tersebut menunjukkan adanya senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan *S.aureus*. Kontrol positif (kloramfenikol) yang digunakan untuk menunjukkan adanya daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji menunjukkan hasil positif terdapat zona bening, sedangkan aquades digunakan sebagai kontrol negative dan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil yang pernah dilaporkan oleh Nurfadilah (2013), bahwa jenis lamun *E. acoroides* yang di ambil di kepulauan Spermonde mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

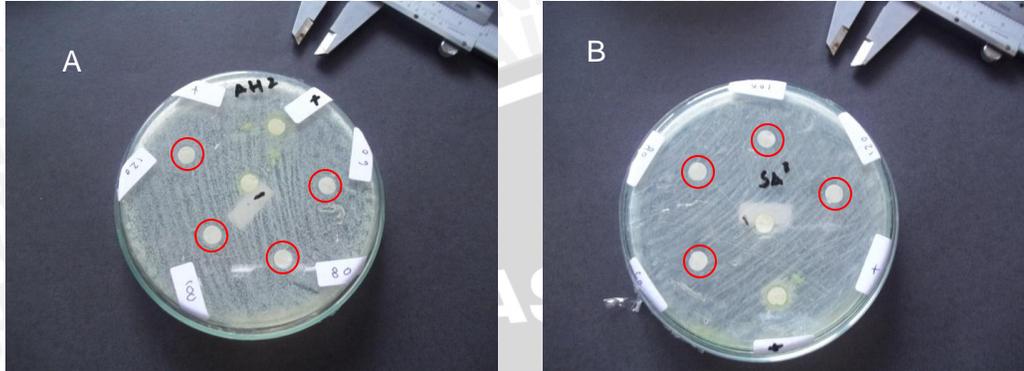
Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan waktu inkubasi 18 jam pada konsentrasi 120ppm tidak terjadi penghambatan terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* diduga senyawa dari ekstrak lamun tersebut masih belum bekerja untuk menghambat bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus*, dapat dilihat pada Gambar 11



**Gambar 11. Zona hambat pada inkubasi 18 Jam A. *A. hydrophila* B. *S. aureus***

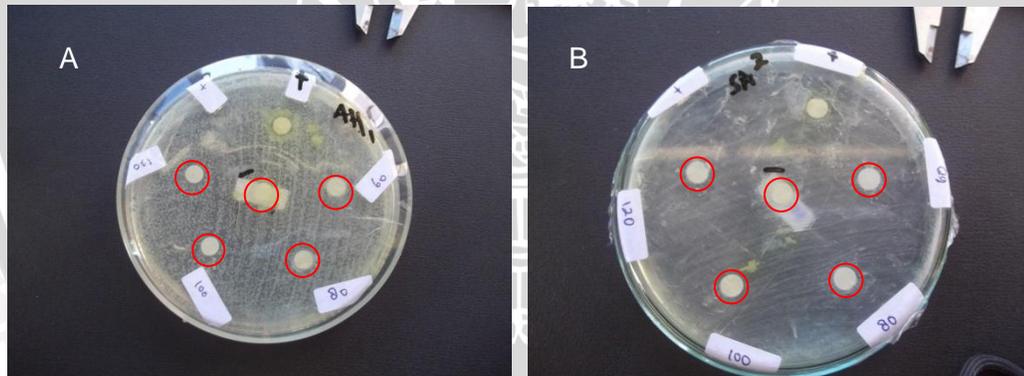
setelah inkubasi 24 jam ekstrak lamun *E. acoroides* dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* dengan membuat zona hambat dapat dilihat Tabel 9 dan Tabel 10. Konsentrasi 120 ppm membentuk zona hambat sebesar 6,40

mm pada bakteri *A. hydrophila* dan 6,47 mm pada bakteri *S. aureus*. Dapat dilihat pada Gambar 12.



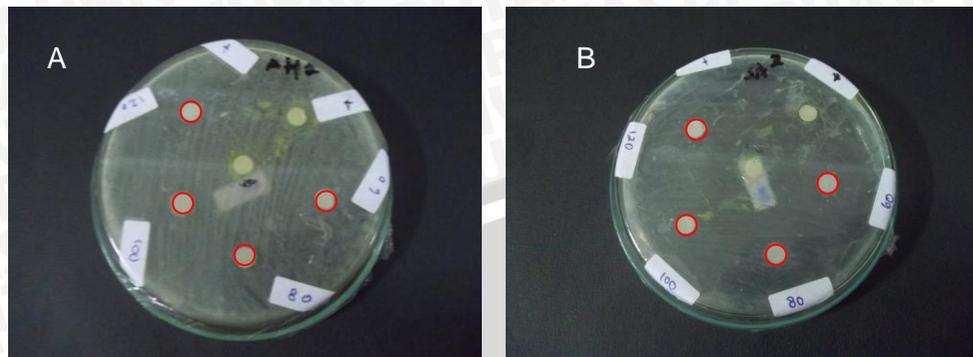
**Gambar 12.** Zona hambat pada inkubasi 24 jam A. *A. hydrophila* B. *S. aureus*

Setelah waktu inkubasi selama 30 jam terjadi peningkatan zona hambat, terbentuknya zona hambat yang paling besar pada ekstrak *E. acoroides* yaitu pada konsentrasi 120 ppm terbentuknya zona hambat dengan diameter sebesar 6,73 mm dan 6,83 mm, dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Zona hambat pada inkubasi 30 jam A. *Ahydrophila* B. *S.aureus*

Pada inkubasi 36 jam terjadi penurunan zona hambat yang diduga pada 36 jam posisi bakteri terdapat pada fase pertumbuhan dimana bakteri akan tumbuh lebih pesat dan senyawa pada ekstrak lamun sudah tidak aktif / kemampuan menghambat bakteri hanya sampau 30 jam saja, dibuktikan pada tabel 10 dan 11. Dapat dilihat pada Gambar 14.



**Gambar 14. Zona hambat pada inkubasi 36 jam A. *A. hydrophila* B. *S. aureus***

#### 4.5 Sifat Senyawa Antibakteri

Pada penelitian ini menunjukkan adanya penambahan dan pengurangan zona hambat yang dipengaruhi lama masa inkubasi, penelitian ini menggunakan masa inkubasi 6 jam sampai 48 jam. Zona hambat pada ekstrak *E. acoroides* terhadap *A. hydrophila* dan *S. aureus* mengalami peningkatan selama masa inkubasi 6 jam sampai 30 jam, dan mengalami penurunan / penyempitan zona hambat setelah 30 jam masa inkubasi. Data dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8. Besarnya diameter zona hambatan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kemampuan difusi senyawa antibakteri ke dalam media dan interaksinya dengan bakteri yang diuji, kepadatan bakteri yang diujikan, kecepatan tumbuh bakteri uji, dan tingkat sensitifitas bakteri terhadap senyawa antibakteri (Dani *et al*, 2011).

Senyawa yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut bakteristatika dan senyawa yang mampu membunuh bakteri disebut bakterisida (Siregar *et al*, 2012). Suatu zat dikatakan bakteristatik jika menunjukkan penurunan zona hambat setelah masa inkubasi 30 jam, dikatakan bakterisida apabila membentuk zona hambat yang dimeternya tidak terjadi penurunan sampai masa inkubasi 48 jam (Dani *et al*, 2011). Berdasarkan hasil pengamatan terhadap zona

hambat, di duga bahwa ekstrak daun lamun *E. acoroides* pada penelitian ini bersifat bakteristatik.



## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak lamun *E. acoroides* yaitu Alkaloid, Flavonoid dan Saponin.
2. Terdapat aktifitas antibakteri pada ekstrak lamun *E. acoroides* terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* ditunjukkan dengan adanya besaran zona hambat pada perlakuan kedua bakteri selama masa inkubasi 48 jam.
3. Konsentrasi ekstrak lamun *E. acoroides* yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* yaitu pada konsentrasi 120 ppm waktu pengamatan 30 jam dan zona hambat terkecil pada ke dua bakteri yaitu pada konsentrasi 120 ppm waktu pengamatan 18 jam..
4. Zona hambat pertama kali terbentuk selama pengamatan yaitu pada waktu 18 jam.
5. Sifat Senyawa ekstrak *E. acoroides* terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *S. aureus* yaitu bersifat bakteristatik.

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat memberi saran untuk penelitian kedepan:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai senyawa yang terdapat pada ekstrak lamun *E. acoroides* yang berpotensi sebagai bahan antibakteri.
2. Perlu adanya identifikasi lamun terlebih dahulu untuk membuktikan bahwa sampel yang di ambil benar spesies yang ditujukan untuk penelitan.<sup>8</sup>
3. Perlu adanya acuan pada uji fitokimia untuk menentukan nilai/persen/skor pada setiap uji alkaloid, uji tanin, uji saponin, uji triterpenoid dan uji flavonoid dan agar bisa menyamakan persepsi setiap peneliti.
4. Perlu peningkatan konsentrasi agar dapat membunuh bakteri dan menunjukkan zona hambat yang lebih besar
5. Pembuatan kontrol positif harus setara dengan konsentrasi tertinggi pada uji aktifitas antibakteri.
6. Pengamatan lebih baik dimulai pada waktu inkubasi 24 jam agar dapat mengefesiensikan waktu penelitian.

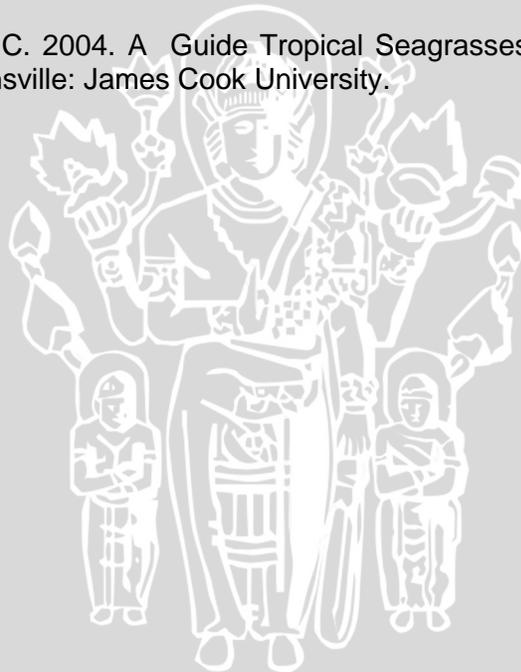
## DAFTAR PUSTAKA

- Abeyasinghe, P. D., R. P. Wanigatunge, R. N. Pathirana. 2006. Evaluation of antibacterial activity of different mangrove plant extracts. *Ruhuna Journal of Science*.
- Agestia, R., dan Sugrani, A. 2009. Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam Laut. Makassar. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin
- Anwariyah, S. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Cymodocea Rotundata*: Bogor. IPB
- Astuty, T. 1997. Pengaruh Konsentrasi Bubuk Daun Sirih Kering Terhadap Pertumbuhan Beberapa Jenis Bakteri dan Aplikasinya Pada Daging Segar. Laporan Hasil Penelitian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Dani, Ira W., Kiki N., dan Cut F. Z. 2011. Penghambatan Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan *Fusarium moniliforme* Oleh Ekstrak Salam (*Eugenia polyantha*) Dan Kunyit (*Curcuma domestica*). FMIPA Universitas Sumatra Utara : Medan.
- Darwis, S.A. dan Achmad B. 2001. Kimia Organik Bahan Alam Laut. Universitas Terbuka. Jakarta.
- Dewi, C. S. U. 2013. Potensi Lamun Jenis *Enhalus acoroides* Dan *Thalassia Hemprichii* Dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta sebagai Bioantifouling. Bogor : IPB.
- Dirjen POM. 1986. Pengujian Bahan Kimia Sintetik Dalam Obat Tradisional. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dooley, J.S.G., Lallier R., Shaw D.H., Trust, T.J. 1985. Electrophoretic and Immunochemical Analyses of the Lipopolysaccharides from Various Strains of *Aeromonas hydrophila*. *J Bacteriol*.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT. Raja Grafindo Persada; Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. Phytochemical methods. Ed ke-2. New York: Chapman and Hall.
- Hayes, J. 2000. *Aeromonas hydrophila*. Spring Term Project. Oregon State University. <http://www.osu.orst.edu/> diakses pada 17 Februari 2015 pukul 23.00 WIB.
- Hillman K, Walker D.J, Larkum A.W.D, dan McComb A.J. 1989. Productivity and nutrient limitation of seagrasses. Di dalam: Larkum AW, McComb AJ, dan

- Shepherd SA (eds). *Biology of Seagrasses*. Netherland: Elsevier Science Publishers.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. United States of America Baltimore: Williams & Wilkins Company.
- Kamiso, H.N., Triyanto. 1993. Vaksinasi *Aeromonas hydrophila* untuk Menanggulangi Penyakit MAS pada Lele Dumbo. Abstrak. Simposium Perikanan Indonesia I. Jakarta.
- Krieg, N.R, Holt, J.G. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Ed ke-1. United States of America Baltimore: Williams & Wilkins Company.
- Kristanti, A.N., Aminah, M.S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kunkel, D. 1999. *Staphylococcus*. <http://thailabonline.com/bacteria6.html/> diakses pada 10 Mei 2015.
- Kuo, J. 2007. A New Monoecious seagrass *Halophila sulawesii* (Hydrocharitaceae) from Indonesia. *Aquatic Botany* (in press). Lalitha, M.K, (2004). *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Christian Medical College. Vellore, Tamil Nadu.
- Lay, Bibiana W. dan Hastowo, Sugyo, (1992), *Mikrobiologi*, Rajawali Press, Jakarta.
- Lehninger, A.L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Thenawidjaya M penerjemah. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: *Principles of Biochemistry*.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida*. Medan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Manitto, P. 1981. *Biosintesis Produk Alami*. Terjemahan : Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Nazir, M. 1989. *Metode Penelitian*. PT Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Ningtyas, R. 2013. Uji Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M Smith) Sebagai Pengawet Alami Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Nurfadilah. 2013. Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Lamun Dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Oktavianus, S. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Mangrove Jenis *Avicennia marina* Terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Pelczar, M.J., Reid, R.D. 1972. Microbiology. 3rd ed. McGraw Hill Book Co. New York.
- Peoloengan, et al. 2006. Aktivitas Antimikroba Dan Fitokimia Dari Beberapa Tanaman Obat (*Antimicroba and Fitochemical Activities of Herbal Medicine*). Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Poedjirahajoe E, Ni Putu D.M., Boy R.S., dan Muhamad S. 2013. Tutupan Lamun Dan Kondisi Ekosistemnya Di Kawasan Pesisir Madasanger, Jelenga, Dan Maluku Kabupaten Sumbawa Barat. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis.
- Purnama, A. 2014. Pemetaan Dan Kajian Beberapa Aspek Ekologi Komunitas Lamun Di Perairan Pantai Karang Tirta Padang. Padang: Universitas Andalas.
- Rasyid, A. 2012. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Ekstrak Metanol Teripang *Stichopus Hermanii*. Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis.
- Riniatsih, I., Setyati, W.A. 2009. Bioaktivitas Ekstrak Dan Serbuk Lamun *Enhalus Acoroides* Dan *Thalassia Hemprichii* Pada *Vibrio Alginolyticus* Dan *Vibrio Harveyii*. Ilmu Kelautan.
- Santosaningsih, D., Lilik Z, Martha N.P. 2011. *Staphylococcus aureus* Pada Komunitas lebih Resisten Terhadap Ampisilin Dibandingkan Isolat Rumah Sakit. Jurnal Kedokteran Brawijaya.
- Sedarmayanti dan Hidayat, S. 2002. Metode Penelitian. Mandar Maju. Bandung.
- Setyo, D.N. 2015. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Lamun *Enhalus acoroides* Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Universitas Brawijaya. Malang
- Sirait, M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung: ITB.
- Siregar, Angelina F, Agus S, Delianis P. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus Luteus*. Journal Of Marine Research.
- Smith dan Keary P.F. 1988. Genetic Elements in Eschericia Coli, Macmillan Molecular Biology Series. London.

- Sumaryono, W. 1999. Produksi Metabolit Sekunder Tanaman Secara Bioteknologi. Prosiding : Seminar Nasional Kimia Bahan Alam. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Suradikusumah, E. 1989. Kimia Tumbuhan. Bogor: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat IPB.
- Suriawiria, U. 1995. Pengantar Mikrobiologi Umum. Bandung: Angkasa Bandung.
- Trianto *et al.* 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegiceras corniculatum* Sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Ilmu Kelautan.
- Tuhumuri S.F, 2008. Status Komunitas Lamun Di Perairan Pantai Teluk Ambon Bagian Dalam (TAD). Ambon: FPIK Universitas Pattimura.
- Victor, L. 1980. Antibiotics in Laboratory Test. The Williams and Wilkins Company, USA.
- Waycott M. and Collier C. 2004. A Guide Tropical Seagrasses of The Indo-West Pacific. Townsville: James Cook University.



## LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

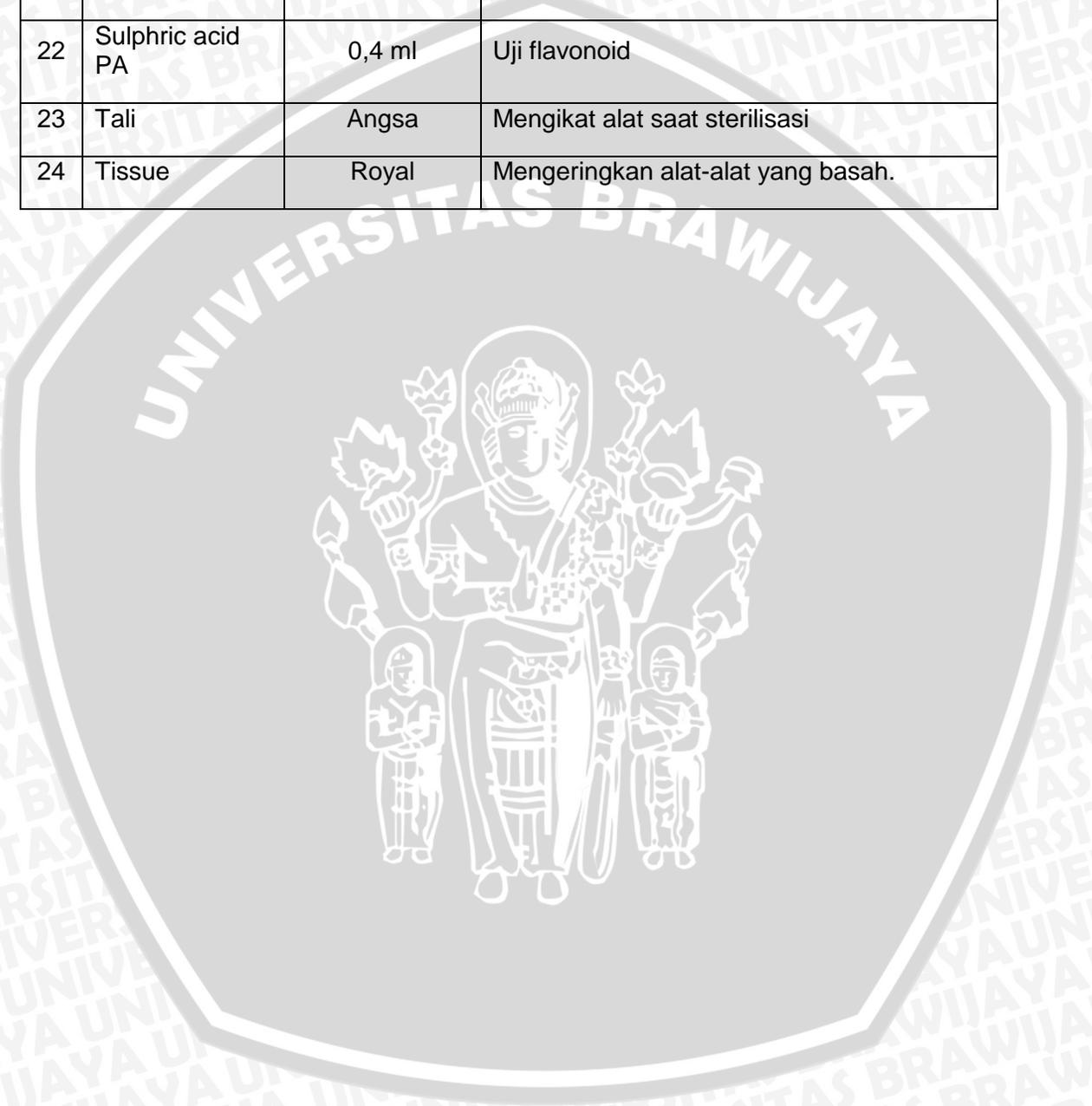
No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
1	Autoklaf	Tomy ES-315	Proses sterilisasi basah pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm atau 0,15 Mpa selama 15 menit.
2	Beaker Glass	Iwaki Pyrex (500 ml)	Tempat maserasi
3	Blender	Miyako	Menghaluskan lamun
4	Botol vial	Amoxan (10ml)	Tempat ekstrak lamun
5	Bunsen	-	Pengkondisian aseptis
6	Cawan Petri	Anumbra	Tempat menumbuhkan dan membiakkan bakteri
7	Corong	Herma	Membantu proses filtrasi
8	Cotton Swab	-	Menginokulasikan bakteri
9	Crushtabel tank	-	Menjepit tabung reaksi selama melakukan proses pemanasan
10	Erlenmeyer	Iwaki Pyrex (1000 ml)	Tempat pembuatan media
11	Gelas ukur	Herma (10 ml)	Mengukur volume larutan
12	Gunting	Gundo	Memotong sampel lamun
13	Hot Plate	Cimarec	Sumber panas dalam skala kecil
14	Inkubator	MMM Med-Center	Menginkubasi media pada suhu 37°C
15	Jangka Sorong	-	Untuk mengukur diameter zona bening
16	Jarum Ose	Steinless	Mengambil bakteri.
17	Kompur	Maspion S-302	Memanaskan media NA
18	Kulkas	Toshiba GR-R66ED	Menyimpan ekstrak lamun
19	Laminar Air	NUAIRE	Isolasi bakteri

No	Alat	Spesifikasi	Fungsi
	<i>Flow</i>		
20	Mikropipet	-	Untuk mengambil larutan dengan jumlah 0,1 ml
21	Nampan	-	Wadah alat dan bahan
22	Oven	Mammer (0-200°C)	Mengeringkan lamun
23	Panci	-	Dekstruksi cawan petri
24	Pinset	-	Mengambil kertas cakram dalam kondisi aseptis
25	Pipet Tetes	-	Mengambil larutan dalam skala kecil
26	Rak tabung reaksi	-	Tempat tabung reaksi
27	Rotary Evaporator	IKA RV10	Memisahkan ekstrak dengan pelarutnya
28	Sendok bahan	-	Mengambil media dalam bentuk serbuk dan ekstrak lamun
29	Spatula	-	Menghomogenkan larutan.
30	Tabung Reaksi	Iwaki Pyrex	Tempat bakteri uji dan larutan pengencer
31	Timbangan Digital	Mettler Toledo AB204-S	Menimbang sampel lamun dengan ketelitian $10^{-2}$
32	Vortex mixer	Maxi Mix II Type-37600	Menghomogenkan larutan pada tabung reaksi

**Lampiran 2.** Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
1	Alkohol	70%	Pengkondisian aseptis.
2	Aluminium Foil	Kinpak	Pembungkus alat.
3	Aquades	80 ml	Pelarut pada pembuatan media
4	Asam sulfat 2N	1,5 ml	Uji alkaloid
5	Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	-	Bakteri uji
6	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	-	Bakteri uji
7	Dragendrof	0,5 ml	Uji alkaloid
8	Ekstrak daun Lamun <i>C. rotundata</i>	- gr	Sampel yang akan di uji
9	Ethanol 95%	4 ml	Uji Flavonoid
10	HCL 2N PA	0,1 ml	Uji saponin
11	Kapas	One Med	Menutup alat agar tidak terkontaminasi.
12	Kertas Cakram	Oxoid	Bahan yang diukur diameter zona hambatnya
13	Kertas Label	Kojico	Penanda
14	Kertas Saring	Pori-pori 12,5 mm	Membantu saat filtrasi
15	Kloramfenikol	0,2 gr	Kontrol positif
16	Larutan McFarlan 10 <sup>7</sup>	-	Kepadatan bakteri uji
17	Magnesium	0,1 gr	Uji flavonoid
18	Methanol	Pro Analys (p.a)	Sebagai pelarut polar
19	NaFIS	35 ml	Larutan pengencer

No	Bahan	Spesifikasi	Fungsi
20	Nutrien Agar (NA)	Merk (1,84 gr)	Media uji antibakteri
21	Pereaksi meyer	0,5 ml	Uji alkaloid
22	Sulphric acid PA	0,4 ml	Uji flavonoid
23	Tali	Angsa	Mengikat alat saat sterilisasi
24	Tissue	Royal	Mengeringkan alat-alat yang basah.



Lampiran 3. Foto Lapangan



Pantai Paciran (pengambilan Sampel)



Lamun Yang Sudah Kering



Menghaluskan Lamun



Pembersihan Lamun

Lampiran 4. Foto Laboratorium



Filtrasi



Evaporasi

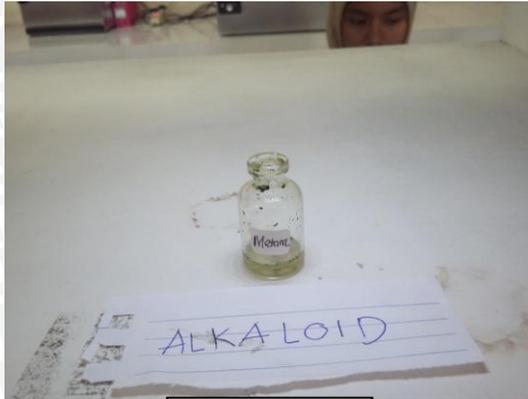


Larutan Konsentrasi

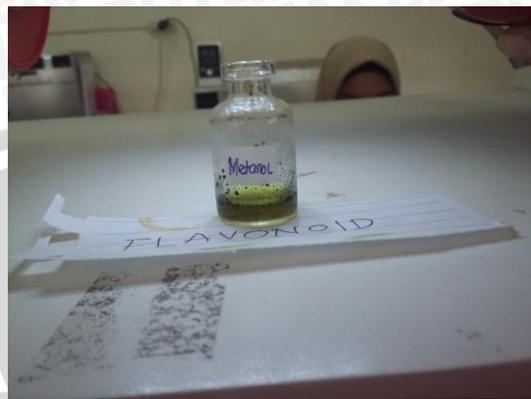


Uji Aktifitas Antibakteri

Lampiran 5. Foto uji fitokimia



Uji Alkaloid



Uji Flavonoid



Uji Triterpenoid



Uji Tanin



Uji Saponin

Lampiran 6. Foto uji aktifitas antibakteri waktu inkubasi 18 jam



Aeromonas hydrophila (pengulangan 1)



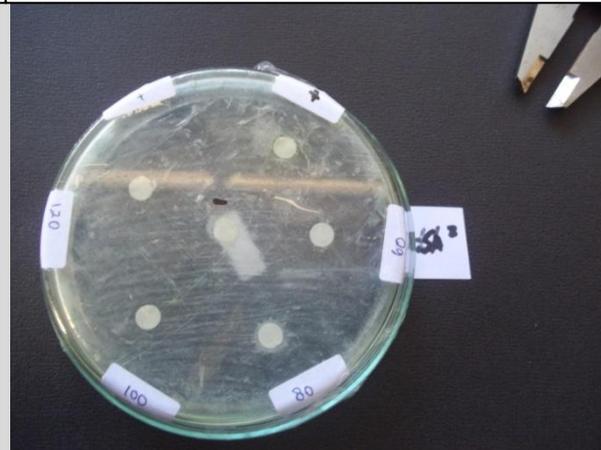
Aeromonas hydrophila (pengulangan 2)



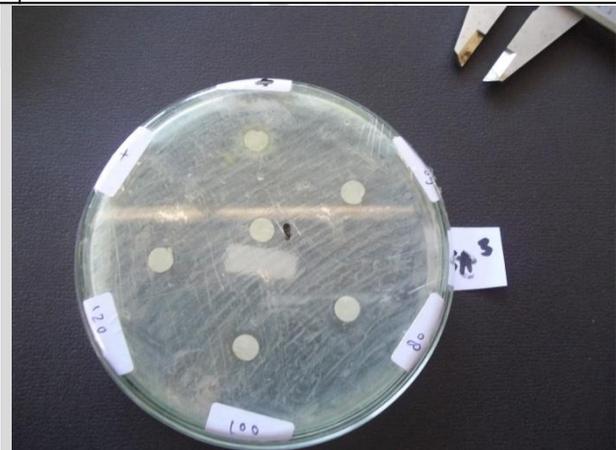
Aeromonas hydrophila (pengulangan 3)



Staphilococcus aureus (pengulangan 1)



Staphilococcus aureus (pengulangan 2)



Staphilococcus aureus (pengulangan 3)

Lampiran 7. Foto uji aktifitas antibakteri waktu inkubasi 24 jam



Aeromonas hydrophila (pengulangan 1)



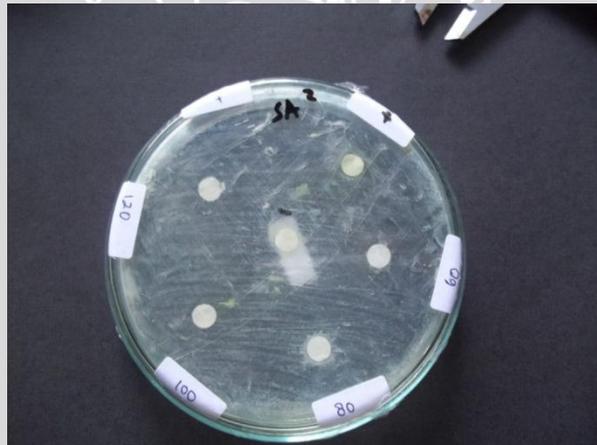
Aeromonas hydrophila (pengulangan 2)



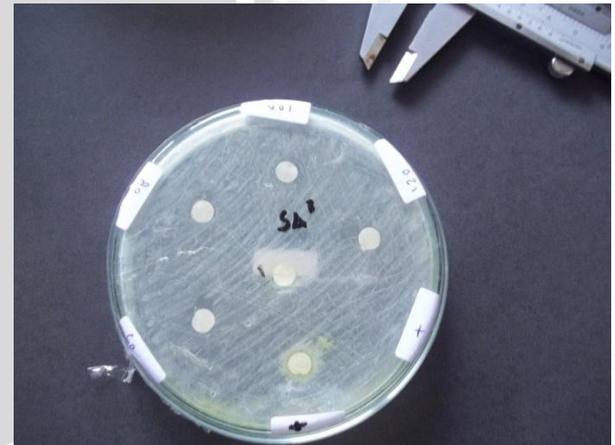
Aeromonas hydrophila (pengulangan 3)



Staphilococcus aureus (pengulangan 1)

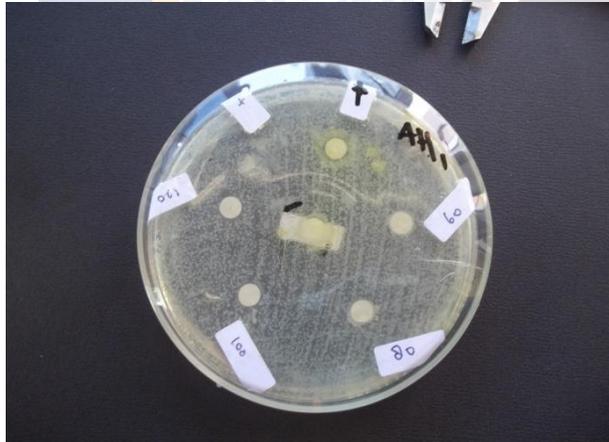


Staphilococcus aureus (pengulangan 2)

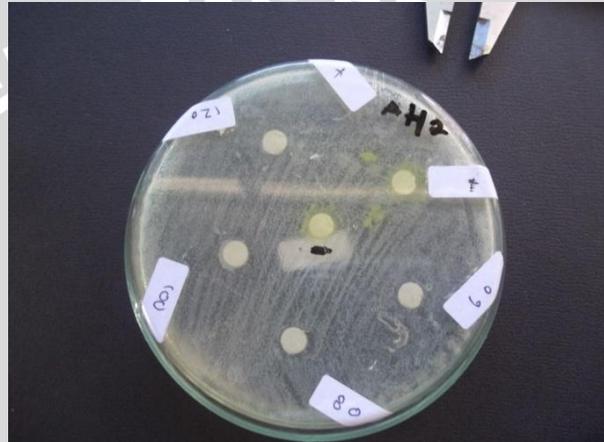


Staphilococcus aureus (pengulangan 3)

Lampiran 8. Uji aktifitas antibakteri waktu inkubasi 30 jam



Aeromonas hydrophila (pengulangan 1)



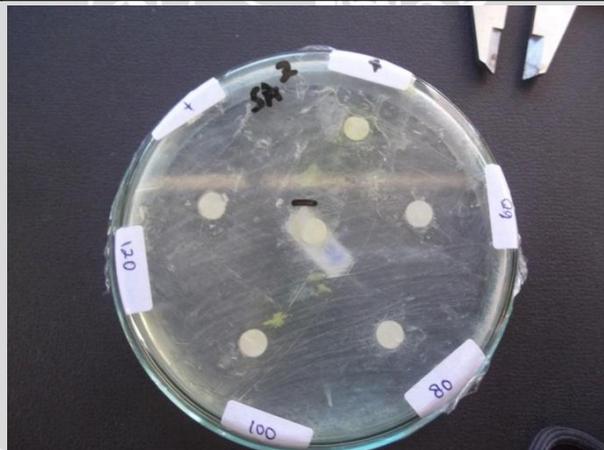
Aeromonas hydrophila (pengulangan 2)



Aeromonas hydrophila (pengulangan 3)



Staphilococcus aureus (pengulangan 1)

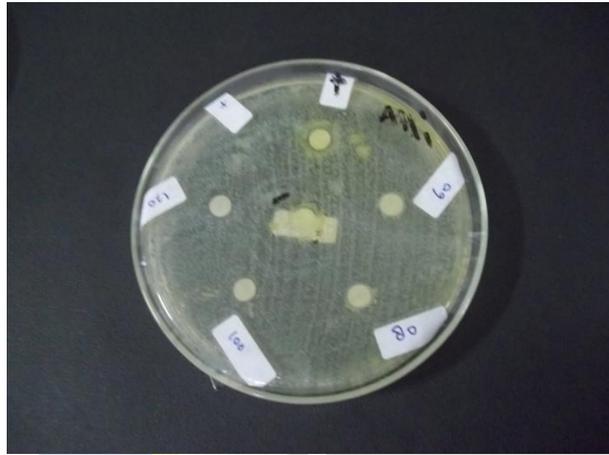


Staphilococcus aureus (pengulangan 2)

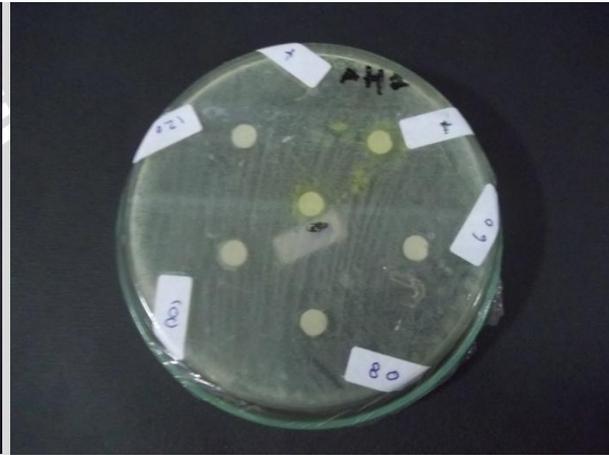


Staphilococcus aureus (pengulangan 3)

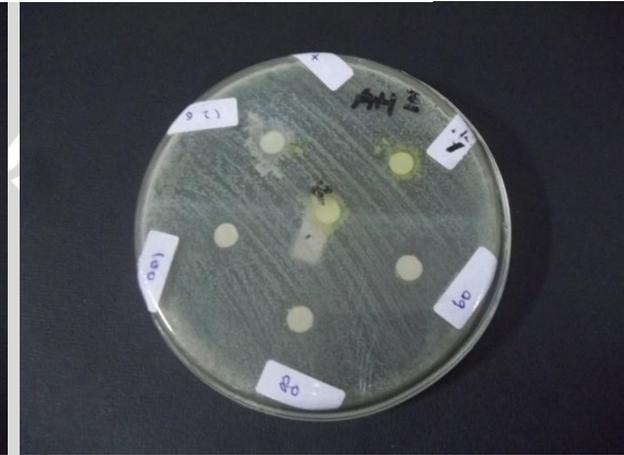
Lampiran 9. Uji aktifitas antibakteri waktu inkubasi 36 jam



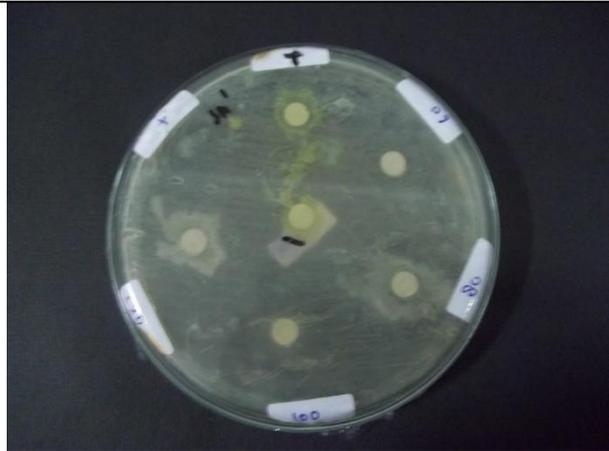
Aeromonas hydrophila (pengulangan 1)



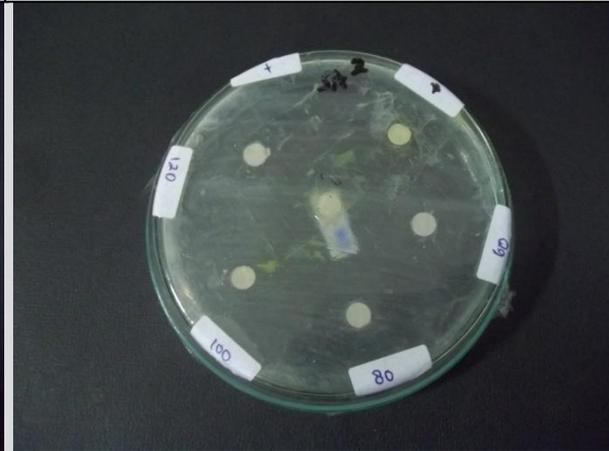
Aeromonas hydrophila (pengulangan 2)



Aeromonas hydrophila (pengulangan 3)



Staphilococcus aureus (pengulangan 1)



Staphilococcus aureus (pengulangan 2)



Staphilococcus aureus (pengulangan 3)

