

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK RUMPUT  
LAUT(*Sargassum duplicatum*) TERHADAP BAKTERI (*Bacillus cereus*)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN  
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

Oleh :

**MOH. HUSEN JAILANI**

**NIM. 105080300111015**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2015**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK RUMPUT  
LAUT(*Sargassum duplicatum*) TERHADAP BAKTERI (*Bacillus cereus*)**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN  
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN**

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

Oleh :

**MOH. HUSEN JAILANI**

**NIM. 105080300111015**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

SKRIPSI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK RUMPUT  
LAUT(*Sargassum duplicatum*) TERHADAP BAKTERI (*Bacillus cereus*)

Oleh :

MOH. HUSEN JAILANI

NIM. 105080300111015

Telah dipertahankan didepan penguji

Pada tanggal 09 November 2015

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No :

Tanggal :

Mengetahui,  
Penguji I

Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MS

NIP. 19581231 198601 2 002

Tanggal :

Menyetujui  
Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Kartini Zailanie, MP

NIP. 19550503 198503 2 001

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Yahya, MP

NIP. 19630706 199003 1 003

Tanggal :

Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal :

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis 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 penjiplakan maka, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 22 November 2015

Mahasiswa

Moh.HusenJailani



## UCAPAN TERIMAKASIH

Atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Kartini Zailanie, MP selaku dosen pembimbing I, yang senantiasa memberikan kepada kami bimbingan dan pengarahan dalam menyusun usulan skripsi, penelitian skripsi, serta laporan skripsi.
2. Dr. Ir. Yahya, MS selaku dosen pembimbing II, yang senantiasa memberikan pengarahan tentang penelitian dan penulisan laporan skripsi.
3. Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati , MS selaku penguji I yang telah memberi masukan dan kritikan yang membangun terhadap laporan skripsi ini.
4. Kedua orang tua yang telah memberikan baik berupa materi maupun non materi, semangat dan doa hingga terselesainya skripsi ini.
5. Teman - teman THP dan Himatrik khususnya Moh. Asrori, Jose Arsanto, Chamim, Deni Hermawan dan Putri Karunia pertiwi yang telah membantu memberikan arahan dan gambaran tentang penelitian dan laporan skripsi
6. Kepada semua pihak yang mendukung dan membantu terselesainya penelitian dan laporan skripsi ini yang nama-namanya tidak bias saya sebutkan satu per satu.

Malang, November 2015

Penulis

## RINGKASAN

**MOH.HUSEN JAILANI** laporan skripsi tentang Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* terhadap Bakteri *Bacillus cereus*.  
**Dibawah bimbingan Dr. Ir. Kartini Zailanie, MP dan Dr. Ir. Yahya, MP.**

---

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Forensik dan Narkoba Polda Jatim, dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Malang, pada bulan Mei – Juni 2015.

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat efektifitas antibakteri dari ekstrak *Sargassum duplicatum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan metode uji cakram dan untuk mengetahui sewanya bioaktif apa saja yang terkandung pada ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan cara uji fitokimia dan uji GC-MS.

Metode penelitian pada penelitian ini adalah kuantitatif. Dari teori-teori yang didapatkan sebelumnya diolah hingga menghasilkan suatu data yang dianalisa dengan RAL. Variabel bebas dalam penelitian adalah penggunaan jenis pelarut polar etanol pro analisis menggunakan DMSO 10% sebagai kontrol. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri pada bakteri *B. cereus* yang terlihat sebagai zona bening disekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

Proses dari penelitian ini adalah, bahan baku *Sargassum duplicatum* segar didapatkan dari kabupaten Jepara. Setelah itu dibersihkan, lalu dijemur hingga kering. Selanjutnya dilakukan proses penepungan untuk mendapatkan hasil filtrat yang baik. Setelah itu dilakukan ekstraksi terbagi menjadi 2 perlakuan. Maserasai adalah perendaman sampel dengan pelarut selama 24 jam dan evaporasi adalah penguapan pelarut untuk menghasilkan ekstrak kasar. Dilakukan uji cakram untuk mengetahui efektifitas dengan konsentrasi yang berbeda dari masing-masing pelarut yang berbeda menggunakan 4 ulangan. Dilakukan uji fitokimia dan uji GC-MS untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak kasar *Sargassum duplicatum*.

Dari data yang didapatkan didapatkan jumlah rata - rata dari setiap perlakuan mulai dari menggunakan ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan pelarut etanol konsentrasi 5000 ppm, 1000 ppm, 15000 ppm, control positif ampisilin tanpa ekstrak dan kontrol DMSO 10% tanpa ekstrak didapatkan rata-rata diameter zona hambat 0,975 mm; 1,775 mm; 2,225 mm; 5,65 mm, dan 0 mm.

Dan hasil uji fitokimia dari *Sargassum duplicatum* terdapat senyawa flavonoid, terpenoid, saponin, dan tannin. Dan untuk hasil GC-MS didapatkan urutan puncak tertinggi adalah *neophytadiene*, *phytol*, propel oleat, dan *squalene*.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Kami panjatkan kehadirat Allah SWT karena dengan rahmat dan ridho-Nya, laporan skripsi ini dapat terselesaikan. Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar Sarjana Perikanan (S.Pi) di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Atas terselesaikan Laporan skripsi ini penulis menyampaikan terimakasih kepada:

- Dr. Ir. Kartini Zaelanie, MS selaku Dosen Pembimbing I dan Dr. Ir. Yahya, MP sebagai pembimbing II hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.
- Kedua Orang Tua Mustaqim, Watini, kedua yang memberikan dukungan moril maupun materil.
- Kepada tim antibakteri, Jose, Chamim, dan Moh. Asrori, terimakasih.
- Teman - teman THP 2010 yang telah memberi petunjuk dan motivasi yang sangat bermanfaat.
- Dan semua orang yang telah memberikan bantuan yang tidak bias saya sebutkan satu persatu, saya sebagai penulis mengucapkan terimakasih hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.

Laporan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan Saran sangat kami harapkan. Penulis berharap laporan skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pihak yang membutuhkan.

Malang, November 2015

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
LEMBAR UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Hipotesis.....	3
1.5. Kegunaan Penelitian.....	4
1.6. Tempat dan Waktu.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Rumput Laut <i>Sargassum duplicatum</i> .....	5
2.1.1. Klasifikasi <i>Sargassum duplicatum</i> .....	5
2.1.2. Karakteristik Rumput Laut.....	6
2.1.3. Manfaat <i>Sargassum sp.</i> .....	7
2.2. Kandungan Senyawa Antibakteri.....	8
2.3. <i>Bacillus cereus</i> .....	8
2.4. Pelarut.....	9
2.4.1. Etanol.....	10
2.4.2. DMSO (Dimethyl Sulfoxide).....	11
2.5. Ekstraksi.....	12
2.6. Aktivitas Antibakteri.....	13
2.6.1. Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram).....	13
2.6.2. Fitokimia.....	15

2.6.3. Uji GC-MS.....	17
2.7. Mekanisme Kerja Antibakteri.....	18
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b>	
3.1. Materi Penelitian .....	20
3.1.1. Bahan Penelitian.....	20
3.1.2. Alat Penelitian.....	20
3.2. Metode Penelitian .....	21
3.2.1. Parameter Uji.....	21
3.2.2. Analisa Data .....	22
3.3. Prosedur Penelitian.....	22
3.3.1. Uji Cakram .....	23
3.3.2. Uji GC-MS (Gas Chromatography- Mass Spectrometry) .....	26
3.3.3. Uji Fitokimia .....	26
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Uji Antibakteri.....	35
4.2. Kandungan Fitokimia Ekstrak <i>Sargassum duplicatum</i> .....	38
4.2.1. Flavonoid .....	38
4.2.2. Tanin.....	39
4.2.3. Saponin.....	40
4.2.4. Terpenoid.....	41
4.3. Identifikasi Senyawa Aktif.....	42
4.3.1. Neophytadiene.....	44
4.3.2. Phytol.....	45
4.3.3. PropilOleat.....	45
4.3.4. Squalene.....	46
<b>5. PENUTUP</b>	
5.1. Kesimpulan .....	47
5.2. Saran .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat-sifat Pelarut Secara Umum .....	10
2. Analisis Kualitatif Ekstrak Rumput Laut <i>Sargassum duplicatum</i> .....	15
3. Klasifikasi Respon Daya Hambat .....	22
4. Klasifikasi Respon Daya Hambat .....	37
5. Aktivitas daya hambat bakteri <i>Lactobacillus pentosus</i> 39 terhadap beberapa strain bakteri patogen .....	37
6. Kandungan Fitokimia <i>Sargassum duplicatum</i> .....	38
7. Empat Senyawa Tertinggi Hasil Analisis GC-MS <i>Sargassum duplicatum</i> .....	44

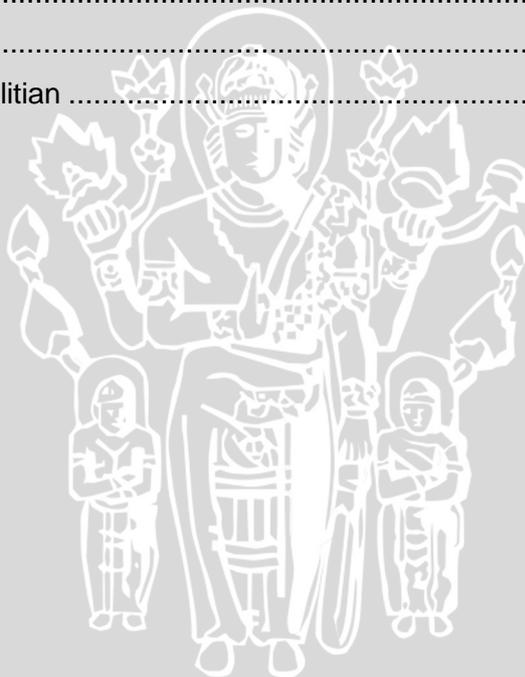


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum duplicatum</i> .....	5
2. Skema Kerja Penelitian.....	25
3. Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid.....	27
4. Uji Fitokimia Senyawa Saponin.....	28
5. Uji Fitokimia Senyawa Tanin.....	29
6. Uji Fitokimia Senyawa Terpenoid.....	30
7. Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid Metode Spektrofotometri.....	31
8. Uji Fitokimia Senyawa Saponin Metode Spektrofotometri.....	32
9. Uji Fitokimia Senyawa Tanin Metode Spektrofotometri.....	33
10. Uji Fitokimia Senyawa Terpenoid Metode Kromatografi Kolom Spektrofotometri.....	34
11. Zona Bening <i>Bacillus cereus</i> dari berbagai Konsentrasi Ekstrak <i>Sargassum duplicatum</i> .....	35
12. Struktur Flavonoid $C_6H_5OH$ .....	39
13. Struktur Tanin $C_{76}H_{52}O_{46}$ .....	40
14. Struktur Saponin $C_{27}H_{42}O_3$ .....	41
15. Struktur Terpenoid $C_{10}H_{16}$ .....	42
16. Spektra Gas Kromatografi <i>Sargassum duplicatum</i> .....	43
17. Struktur Kimia <i>Neophytadienene</i> $C_{20}H_{38}$ .....	44
18. Struktur Kimia <i>Phytol</i> $C_{20}H_{40}O$ .....	45
19. Struktur Kimia Propil Oleat $C_{21}H_{40}O_2$ .....	46
20. Struktur Isoprena pada <i>Squalene</i> $C_{30}H_{50}$ .....	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Media MHA (Muller Hinton Agar) .....	53
2. Perhitungan DMSO 10% dan Konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm, 15000 ppm.....	54
3. Pembuatan Kultur Bakteri .....	55
4. Skema Kerja Uji Cakram Metode Difusi (Kirby Bauer).....	56
5. Rancangan Acak Lengkap dari Data Hasil Zona Hambat <i>Sargassum duplicatum</i> terhadap <i>Bacillus cereus</i> .....	57
6. Hasil Uji Fitokimia .....	59
7. Hasil Uji GC-MS.....	61
8. Dokumentasi Penelitian .....	68



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kondisi perikanan Indonesia menurut Anggraini (2013), menyatakan bahwa Potensi perikanan Indonesia sangat baik untuk kontribusi didalam pemenuhan gizi masyarakat, khususnya protein hewani, disamping kontribusinya dalam pertumbuhan perekonomian Indonesia. Hal ini ditunjukkan dengan adanya potensi perikanan Indonesia yang diperkirakan sebesar 6,4 juta ton pertahun yang tersebar di wilayah Indonesia dan ZEE (Zona Ekonomi Eksklusif) dengan jumlah tangkapan yang diperbolehkan sebesar 5, 12 juta ton pertahun atau sekitar 80 persen dari potensi lestari.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan berbagai macam tumbuhan. Tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan manusia salah satunya adalah untuk obat. Indonesia telah mengkaji 450 tanaman obat dari 3000 jenis tanaman obat yang sudah diketahui khasiatnya dalam menyembuhkan berbagai penyakit tertentu. Kurang lebih 80% obat- obatan yang digunakan di Indonesia berasal dari tumbuh-tumbuhan. Pada tumbuhan sudah dikenal mengandung berbagai senyawa kimia tertentu yang mempunyai efek fisiologis terhadap organisme tertentu (Melki *et. all.*, 2012).

Rumput laut adalah tanaman yang habitatnya berada di laut tepatnya di sepanjang garis pantai. Rumput laut mengandung beberapa zat kimia yang dapat dimanfaatkan manusia untuk kebutuhan hidupnya sebagai makanan, zat tambahan makanan atau sebagai obat. Zat-zat yang terdapat didalam rumput laut antara lain karotenoid, protein, asam lemak essensial, vitamin dan mineral. Rumput laut juga memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti terpenoid dan anti oksidan alami yaitu

sulfat polisakarida yang tidak terdapat pada tanaman-tanaman lain (Mutawie dan El-Naggar, 2013).

Menurut Dewanto *et all.*, (2013) Algae *Sargassum* merupakan salah satu marga *Sargassum* termasuk dalam kelas Phaeophyceae. Algae *Sargassum* mengandung iodine dan bahan alginat yang bermanfaat sebagai bahan industri kosmetik, farmasi, makanan dan tekstil. Algae *Sargassum* juga memproduksi beberapa jenis senyawa sekunder seperti florotanin, steroid dan sterol. Ditambahkan oleh Anggraeni, (2013) bahwa, Algae *Sargassum* mempunyai kandungan senyawa yang bisa digunakan sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen. Hal ini disebabkan terdapatnya senyawa tannin dan fennol pada algae *Sargassum*.

*Bacillus cereus* tergolong jenis bakteri mesofilik yang mampu mengubah bentuk menjadi endospora yang tahan terhadap panas. Bakteri ini dapat menyebabkan pembusukan makanan dan diare. Diare adalah sebuah penyakit dimana penderita sering mengalami buang air besar (Yulinar *et all.*, 2013).

Makanan merupakan kebutuhan manusia sehari-hari. Makanan yang tidak bersih seringkali menimbulkan penyakit bagi yang mengkonsumsinya. Timbulnya penyakit akibat dari mengkonsumsi makanan yang tidak bersih atau terkontaminasi disebut penyakit bawaan manusia (food-borne diseases). Penyakit bawaan makanan menjadi permasalahan yang sangat sering dijumpai dimasyarakat. Salah satu cara untuk memelihara kesehatan dengan cara memakan makanan yang bersih dan bebas dari penyakit (Agustina *et all.*, 2009).

Rumput laut mempunyai banyak manfaat terutama kandungan senyawa bioaktif yang terdapat didalamnya. Senyawa bioaktif yang ada pada rumput laut dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Oleh karena itu, hal ini dipandang perlu

dilakukan penelitian mengenai uji antibakteri terhadap bakteri *Bacillus cereus* dengan memanfaatkan ekstrak rumput laut.

### 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diangkat pada penelitian rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* terhadap bakteri *Bacillus cereus* meliputi :

- Tingkat efektifitas ekstrak *Sargassum duplicatum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan konsentrasi yang berbeda
- Untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum duplicatum*

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- Untuk mengetahui tingkat efektifitas antibakteri dari ekstrak *Sargassum duplicatum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan metode uji cakram
- Untuk mengetahui senyawa bioaktif apa saja yang terkandung pada ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan cara uji fitokimia dan uji GC-MS.

### 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang dapat mendasari dari penelitian ini adalah :

- Ekstrak *Sargassum duplicatum* mempunyai komponen daya antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*
- Pada konsentrasi ekstrak tertinggi dari ekstrak *Sargassum duplicatum* adalah yang paling terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan:

- Peneliti selanjutnya mengetahui manfaat *Sargassum duplicatum* dalam menghambat bakteri *Bacillus cereus* dengan konsentrasi yang berbeda
- Peneliti mengerti senyawa bioaktif yang terkandung pada *Sargassum duplicatum*

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Forensik dan Narkoba Polda Jatim, dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Malang, pada bulan Mei – Juni 2015.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Rumput Laut *Sargassum duplicatum*

#### 2.1.1 Klasifikasi *Sargassum duplicatum*

Menurut Anggraeni (2013) klasifikasi *Sargassum duplicatum* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Division : Phaeophyta

Class : Phaeophyceae

Order : Fucales

Family : Sargassaceae

Genus : *Sargassum* C. Agard

Spesies : *Sargassum duplicatum*

Variety : *Sargassum duplicatum* J.Ag



Gambar 1. *Sargassum duplicatum*  
Sumber : Husen, 2015

### 2.1.2 Karakteristik Rumput Laut

Terdapat 150 marga *Sargassum* yang dijumpai di perairan tropis, subtropis, dan daerah bermusim dingin. Di perairan Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis algae *Sargassum* dan yang telah dikenal mencapai 12 jenis. Algae *Sargassum* merupakan rumput laut coklat yang termasuk kedalam kelas Phaeophyceae. Habitat *Sargassum* berada pada perairan yang terdapat ombak dan arus dengan kedalaman 0,5-10 m. Pertumbuhan algae ini dengan cara melekat pada substrat dasar perairan. Pertumbuhan *Sargassum* membutuhkan Intensitas cahaya matahari 6500-7500 lux (Kadi,2005).

Rumput laut *Sargassum* adalah rumput laut tergolong dalam divisi Phaeophyta kelas Phaeophyceae. Algae *Sargassum* termasuk rumput laut yang menjadi tumpuan utama dalam pengembangan produksi perikanan karena bersifat alginofit atau penghasil alginat dan sumber iodium alamiah. Hampir diseluruh wilayah perairan Indonesia terdapat rumput laut *Sargassum*. Hal ini bisa dimanfaatkan untuk membuka lapangan kerja dengan mengolah rumput laut *Sargassum* menjadi alginat atau hasil lain seperti antioksidan dan antibakterii (Sulistijo dan Szeifoul,2006).

Salah satu jenis *Sargassum sp.* Adalah *Sargassum duplicatum*. Morfologii rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* yakni mempunyai batang dan daun sesungguhnya namun tidak terdapat akar pada rumput laut ini. Rumput laut coklat ini di golongankan kedalam tumbuhan thallus yang memiliki gelembung udara atau disebut *bladder*. *Bladder* berfungsi agar rumput laut ini dapat terapung atau terangkat keatas dengan tujuan supaya mendapatkan intensitas sinar matahari yang cukup yang nantinya digunakan untuk proses fotosintesis. Habitat *Sargassum*

*duplicatum* di laut dengan terdapat substrat sebagai tempat untuk menempel dan berkembangbiak (Zailanie dan Kartikaningsih, 2013).

### 2.1.3 Manfaat *Sargassum sp.*

Banyak sekali manfaat rumput laut sebagai bahan kebutuhan bagi kelangsungan kehidupan manusia. Di Indonesia rumput laut sering digunakan sebagai bahan makanan seperti digunakan untuk membuat kue, agar-agar atau puding, acar, lalapan, sayur dan manisan. Salah satu rumput laut yang bisa dimanfaatkan sebagai makanan adalah rumput laut coklat *Sargassum sp.* yang merupakan golongan ganggang coklat terbesar yang tersebar di Indonesia. Secara umum *Sargassum sp.* belum begitu dikenal dan dimanfaatkan. Padahal dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa rumput laut *Sargassum sp.* memiliki kandungan gizi cukup tinggi seperti protein dan beberapa mineral esensial (Handayani *et al.*, 2004).

*Sargassum sp.* adalah rumput laut yang memiliki nilai ekonomis dan tersebar di seluruh perairan Indonesia. *Sargassum sp.* mempunyai potensi untuk diolah menjadi alginat yang banyak dibutuhkan dalam industri makanan maupun non pangan. Alginat yang dimanfaatkan untuk industri pangan biasanya digunakan sebagai bahan untuk membuat kemasan edible film atau edible coating. Edible coating selain dapat melindungi produk pangan dan meningkatkan masa simpannya, juga dapat mempertahankan kenampakan asli produk bahan pangan. Manfaat lain dari kemasan edible adalah dapat langsung dimakan dan aman bagi lingkungan (Bahar, 2012).

## 2.2 Kandungan Senyawa Antibakteri

Rumput laut coklat sering kali menjadi masalah diperairan Indonesia karena jumlahnya sangat banyak dan tidak banyak dimanfaatkan. Baru-baru ini telah ditemukan bahwa rumput laut coklat dapat dimanfaatkan sebagai sumber penghasil alginate maupun produk minuman kesehatan karena kandungan bioaktifnya yang cukup tinggi. *Sargassum sp* telah diketahui mengandung senyawa-senyawa bioaktif seperti fucoidan dan fenolik yang dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Jenis komponen fenolik yang sering terdapat pada *Sargassum sp* adalah phlorotanin yang berkisar antara 0,74% sampai 5,06% (Tri dan Asnani, 2012).

Rumput laut coklat atau *Sargassum sp* adalah termasuk dalam golongan kelas Phaeophyceae. Rumput laut coklat memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti Na, Mg, Fe, iodine, tannin dan fenol yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan antimikroba untuk menghambat bahkan membunuh bakteri patogen yang merugikan. Kandungan senyawa bioaktif rumput laut berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap bakteri penyebab diare. Diare adalah sebuah penyakit yang mengakibatkan penderita sering mengalami buang air besar dan memiliki kandungan air berlebihan (Yusuf *et al.*, 2012).

## 2.3 *Bacillus cereus*

Bakteri merupakan makhluk hidup yang terdiri dari satu sel. Sel-selnya ada yang berbentuk spiral, coccus, batang, spiral dan sebagainya. Bakteri mempunyai ukuran panjang 1,5  $\mu\text{m}$ -2,5  $\mu\text{m}$  dan diameter 0,5  $\mu\text{m}$  -1  $\mu\text{m}$ . Bakteri dibagi dua berdasarkan respon mereka terhadap pewarnaan gram, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Perbedaan antara bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif terletak pada komposisi kimia dinding selnya. Dinding sel pada bakteri gram

negatif tersusun atas peptidoglikan sedangkan komponen-komponen khususnya berupa lipoprotein, dan selaput luar berupa lipopolisakarida. Dinding sel pada bakteri gram positif tersusun atas peptidoglikan serta komponen-komponen khususnya berupa asam-asam teikhoat dan teikhuronat serta polisakarida. Contoh Bakteri gram positif adalah *Bacillus cereus* (Naryaningsih, 2005).

*Bacillus cereus* adalah bakteri gram positif yang bersifat anaerobik fakultatif dan dapat membentuk spora. Spora bakteri *Bacillus cereus* terletak ditengah-tengah sel atau agak ditengah sel. Bakteri ini seringkali ditemukan di dalam tanah dan pada tanaman, serta kadang-kadang terdapat pada makanan yang tercemar. Bakteri ini mempunyai ukuran yang besar yaitu sekitar, 1,0  $\mu\text{m}$ -1,2  $\mu\text{m}$  dan panjang 3,0  $\mu\text{m}$ -5,0  $\mu\text{m}$ . *Bacillus cereus* dapat mengakibatkan makanan menjadi busuk. Suhu pertumbuhannya antara 10-14  $^{\circ}\text{C}$  dengan suhu optimum 28-35 $^{\circ}\text{C}$  dan pH pertumbuhannya 4,9- 9,3 dengan pH optimum 7,0-7,5. *Bacillus cereus* dapat menyebabkan keracunan. Racun yang dihasilkan bisa digolongkan menjadi dua, yaitu toksin diargenik dan toksin emetik (Dian, 2007).

#### 2.4 Pelarut

Rumput laut *Sargassum duplicatum* Mempunyai kandungan kimia seperti fucoidan atau fenolik yang bisa diambil dengan cara ekstraksi pelarut. Ekstraksi bisa dengan menggunakan pelarut yang mempunyai daya polar yang sama dengan bahan. Hal ini karena pada prinsipnya bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Ada beberapa pelarut yang sering digunakan dalam mengekstrak bahan seperti etanol, metanol, etil asetat, heksana dan air (Tri dan Asnani, 2012).

Berikut ini adalah beberapa pelarut polar, polar aprotik dan non polar yang disajikan dalam bentuk tabel 1.

Tabel 1. Sifat-sifat Pelarut Umum

Solvent	Rumus Kimia	Titik Didih (°C)	Konstanta Dielektrik	Massa Jenis (gr/mol)
<b>Pelarut Polar Protic</b>				
Asam asetat	CH <sub>3</sub> -C(=O)OH	118	6.2	1.049
n-Butanol	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	118	18	0.810
Isopropanol (IPA)	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -(-OH)-CH <sub>3</sub>	82	18	0.785
n-Propanol	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	97	20	0.803
Etanol	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -OH	79	30	0.789
Metanol	CH <sub>3</sub> -OH	65	33	0.791
Asam format	H-C(=O)OH	100	58	1.21
Air	H-O-H	100	80	1000
<b>Pelarut Polar Aprotik</b>				
1,4 Dioksana	$\text{1,4-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$	101	2.3	1.033
Tetrahidrofuran (THF)	$\text{1-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$	66	7.5	0.886
Diklorometana (DCM)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	40	9.1	1.326
Acetona	CH <sub>3</sub> -C(=O)-CH <sub>3</sub>	56	21	0.786
Acetonitril (MeCN)	CH <sub>3</sub> -C≡N	82	37	0.786
Dimetilformamida (DMF)	H-C(=O)N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	153	38	0.944
Dimetil sulfoksida (DMSO)	CH <sub>3</sub> -S(=O)-CH <sub>3</sub>	189	47	1.092
<b>Pelarut Non Polar</b>				
Heksana	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	69	2.0	0.655
Benzena	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	80	2.3	0.879
Toluena	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>3</sub>	111	2.4	0.867
Dietil eter	CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	35	4.3	0.713
Kloroform	CHCl <sub>3</sub>	61	4.8	1.498
Etil Asetat	CH <sub>3</sub> -C(=O)-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	77	6.0	0.894

Sumber : Anggana, 2013

#### 2.4.1 Etanol

Etanol adalah cairan yang bersifat mudah terbakar, mudah menguap, tidak berwarna atau jernih. Etanol atau bisa juga disebut *ethyl alcohol* (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) adalah kelompok *hidroksil* yang memberikan polaritas pada molekul dan mengakibatkan meningkatnya ikatan hydrogen intermolekuler. Etanol mempunyai massa jenis 0.7893 g/mL. Titik didih etanol pada tekanan atmosfer adalah 78.32°C. Etanol dapat

digunakan pada berbagai produk seperti untuk campuran bahan bakar, produk minuman, penambah rasa, industry farmasi dan bahan-bahan kimia (Kurniawan *et.,al*, 2010)

Etanol merupakan cairan jernih tak berwarna, rasanya pahit, mudah menguap, larut dalam air dalam semua perbandingan dan bersifat hipnotik. Kegunaan etanol selain sebagai pelarut, antiseptik, minuman juga sebagai bahan makanan dalam industri farmasi dan sebagai bahan bakar (Hernawati, 2014). Pada umumnya pelarut yang sering digunakan adalah etanol. Karena etanol telah banyak digunakan sebagai pelarut di bidang pangan dan obat-obatan dan cenderung lebih aman dibandingkan eter dan aseton (Mardaningsih *et., al*, 2012).

#### 2.4.2 DMSO (Dimethyl Sulfoxide)

Sulfoksida Dimetil (DMSO) mempunyai rumus kimia  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ . Pelarut ini tergolong senyawa organosulfur dan bersifat polar aprotik. Polar Aprotik adalah pelarut yang mempunyai kelebihan yaitu dapat melarutkan baik senyawa polar dan non polar serta dapat larut dengan pelarut lain yang bersifat organik. Pelarut DMSO jika dilihat cairannya tidak memiliki warna atau bening (Badan POM RI 2015). Pelarut DMSO memiliki kelebihan, yaitu tidak berpengaruh terhadap proliferasi sel. Sulfoksida Dimetil konsentrasi sampai 4% v/v telah dibuktikan tidak mengganggu proliferasi sel HeLa (Maryati dan Sutrisno, 2008).

Sulfoksida Dimetil (DMSO)  $[(\text{CH}_3)_2\text{SO}]$  termasuk molekul amphipathic mempunyai daerah kepolaran dan daerah non polar. Untuk itu DMSO dapat larut kedalam media cairan dan organik. Sulfoksida Dimetil sangat efektif sebagai pelarut untuk senyawa yang tidak larut air dan ikatan hidrogen. Meskipun diketahui sejak

abad 19 sebagian besar digunakan pada industri kayu, sifat biologisnya diketahui pada tahun 1960. Semenjak itu DMSO digunakan untuk tujuan laboratorium dan klinis. DMSO sering digunakan sebagai pelarut untuk pembelajaran ilmu hayati dan sebagai sarana untuk terapi pengobatan. Namun keberadaan DMSO kadang-kadang diabaikan dalam ilmu tersebut. Didalam artikel ini penulis mencoba memaparkan pandangan global terhadap ilmu yang mempelajari molekul, sel, farmasi, dan efek toksikologi dari DMSO (Santose *et al.*, 2003).

## 2.5 Ekstraksi

Kandungan kimia ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* bisa diperoleh dengan cara ekstraksi pelarut. Prinsip dari ekstraksi ini adalah memisahkan komponen yang ada dalam bahan yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dengan pelarut dilakukan dengan mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak (Tri dan Asnani, 2012).

Pada ekstraksi sistem padat-cair, perpindahan massa terjadi secara difusi di dalam padatan dan konveksi antar fase padatan-cairan. Perancangan suatu alat ekstraktor dapat dilakukan dengan baik dan operasi dapat dilakukan secara optimum, bila nilai parameter-parameter dalam peristiwa transfer massa tersebut diketahui dengan tepat. Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi adalah : jenis pelarut, rasio berat bahan dengan volume pelarut, suhu, pengadukan, waktu ekstraksi, ukuran padatan, dan perendaman (Distantina *et al.*, 2008).

Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan cara mendapatkan ekstrak dari padat ke cair dengan jalan membiarkan padatan terendam dalam suatu pelarut. Proses perendaman secara maserasi dapat

dilakukan pada suhu kamar atau tanpa pemanasan dan bisa juga dilakukan dengan pemanasan. Kelebihan menggunakan metode maserasi adalah prosesnya cepat, waktu perendaman bahan bervariasi antara 15-30 menit namun, terkadang bisa pula waktu perendaman sampai 24 jam. Pelarut yang digunakan pada metode maserasi cukup besar, bisa 10 sampai 20 kali jumlah sampel. Pada maserasi perlu adanya pengadukan supaya konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia menjadi rata. Jika maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut organik maka, hasil filtrat dijadikan satu kemudian dilakukan evaporasi atau destilasi (Dian, 2011).

## **2.6 Aktivitas Antibakteri**

### **2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri (Uji Cakram)**

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-Bauer yang dikenal dengan sebutan metode cakram kertas. Tiap-tiap cakram kertas kosong sebelumnya dipanaskan dalam oven pada suhu 70°C selama 15 menit, kemudian kertas cakram dicelupkan ke dalam larutan uji. Cakram yang telah berisi supernatan, kemudian didiamkan selama 15 menit sebelum diletakkan pada media uji. Kemudian secara aseptik, setelah kertas cakram menyerap supernatan tersebut, masing-masing diletakkan pada permukaan medium yang telah berisi mikroba uji. Jumlah cakram kertas yang diletakkan tersebut kira-kira dalam satu cawan petri berisis 6-7 buah, dan masing-masing jarak antara cakram diatur supaya tidak terlalu dekat (Noverita *et al.*, 2009).

Menurut Kusmiyati dan Wayan (2006), pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas.

a. Metode difusi

- silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat diatas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder.
- Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang.
- Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

- b. Metode pengenceran yaitu mengencerkan zat antimikroba dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi steril. Di dalam masing-masing tabung itu ditambahkan sejumlah mikroba uji yang telah diketahui jumlahnya. Pada interval waktu tertentu, dilakukan pemindahan dari tabung reaksi ke dalam tabung-tabung berisi media steril yang lalu diinkubasikan dan diamati penghambatan pertumbuhan.

## 2.6.2 Uji Fitokimia

Menurut Tri dan Asnani (2012), analisis kualitatif dilakukan untuk mengetahui adanya komponen fitokimia dari ekstrak rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* yang meliputi flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* setelah diuji kualitatif terdapat senyawa- senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Berikut ini tabel hasil analisis kualitatif ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum*

Tabel 2. Analisis kualitatif ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum*

Kombinasi Perlakuan	Flavonoid	Tanin	Saponin	Terpenoid
Ekstrak heksan metode satu tahap	+++	+	+++	+++
Ekstrak etil asetat metode satu tahap	+++	++	+++	+++
Ekstrak methanol metode satu tahap	+++	+++	+++	+++
Ekstrak etanol metode satu tahap	+++	+++	+++	+++
Ekstrak air metode satu tahap	+++	+	+++	+++
Ekstrak heksan metode bertingkat	+++	++	+++	+++
Ekstrak etil asetat metode bertingkat	+++	++	+++	+++
Ekstrak methanol metode bertingkat	+++	+++	+++	+++
Ekstrak etanol metode bertingkat	+++	++	+++	+++
Ekstrak air metode bertingkat	+++	+	+++	+++

Keterangan: + = menunjukkan intensitas warna pada analisis flavonoid, tanin, dan terpenoid; pada analisis saponin menunjukkan tinggi buih yang terbentuk.

Sumber : Tri dan Asnani, 2012.

Menurut Tjandra *et al.* (2008), Fitokimia merupakan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam. Uji fitokimia biasanya meliputi uji terhadap alkaloid, steroid, triterpenoid, fenolik, flavonoid dan saponin

- a. Alkaloid, merupakan senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Biasanya tak berwarna, seringkali bersifat optis aktif dan kebanyakan berbentuk kristal

pada suhu kamar. Alkaloid dapat diidentifikasi dengan reagen Mayer yang akan membentuk endapan putih dan reagen Dragendorff yang akan membentuk endapan merah bata.

- b. Steroid, merupakan senyawa yang mempunyai cincin siklopentano perhidrofenantren. Sterol merupakan senyawa steroid yang paling banyak ditemukan di alam. Identifikasi dapat dilakukan dengan uji Lieberman-Burchard yang akan positif apabila memberikan warna hijau. Intensitas warna hijau sangat bergantung pada banyaknya sterol yang ada. Warna hijau kebiruan sampai hijau diperoleh apabila sterol dilarutkan dalam kloroform ditambahkan asam sulfat pekat.
- c. Triterpenoid adalah senyawa yang memiliki kerangka karbon dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis dirumuskan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karbohidrat. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, sering bertitik leleh tinggi dan bersifat optis aktif. Pada umumnya, triterpenoid sukar dicirikan karena tak ada kereaktifan kimianya. Diidentifikasi dengan uji Lieberman-Burchard yang memberikan warna hijau-biru apabila positif.
- d. Fenolik merupakan senyawa yang mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenolik yang tersebar luas dalam tumbuhan cenderung larut dalam air karena kebanyakan lebih sering berkombinasi dengan gula membentuk glikosida dan kebanyakan terdapat dalam vakuola sel. Flavonoid merupakan senyawa yang paling banyak terdapat di alam, kemudian fenol sederhana monosiklik, fenil propanoid dan kuinon fenolik. Beberapa fenolik dalam bentuk polifenolik dalam tumbuhan, seperti lignin, melanin dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut biasanya terikat dengan protein, alkaloida, dan

terpenoid. Fenolik dapat diidentifikasi dengan  $\text{FeCl}_3$  1% yang akan membentuk senyawa kompleks yang berwarna biru atau biru ungu.

- e. Flavonoid, merupakan salah satu golongan fenolik alam terbesar yang terdapat pada tumbuhan. Umumnya flavonoid mempunyai konfigurasi struktur C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid dapat diidentifikasi dengan sedikit bubuk magnesium dan HCl pekat yang akan membentuk larutan berwarna merah kuning atau jingga.
- f. Saponin, merupakan senyawa glikosida steroid, alkaloid steroid atau triterpena yang ditemukan dalam tumbuhan. Sifatnya seperti sabun yang menimbulkan busa apabila dikocok dalam air. Oleh karena itu saponin dapat diidentifikasi dengan mengocoknya. Bila pada penambahan 1 tetes HCl pekat busa yang terjadi tidak hilang selama 15 menit, maka saponin dinyatakan positif.

### 2.6.3 Uji GC-MS

Kromatografi Gas – Spektro Massa adalah gabungan dari metode kromatografi gas dan spektroskopi massa untuk mengidentifikasi zat dalam suatu sampel. Kromatografi gas adalah metode pemisahan suatu campuran di antara fase gerak berupa gas yang stabil dan fase diam berupa zat padat atau zat cair yang tidak mudah menguap. Metode ini bisa digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa organik. Prinsip kerjanya yaitu cuplikan dalam bentuk uap dibawah oleh aliran gas ke dalam kolom pemisah yang hasilnya akan dianalisis dari kromatogram. Sedangkan spektro massa adalah metode pengubahan komponen cuplikan menjadi ion – ion gas dan dipisahkan berdasarkan massa muatan. Prinsip kerjanya adalah menyinari molekul berbentuk gas dengan elektron berenergi tinggi didalam sistem hampa sehingga akan terjadi ionisasi, ion molekul terbentuk dan ion

molekul yang tidak stabil pecah menjadi ion – ion yang lebih kecil (Hendayani *et al.*, 1994).

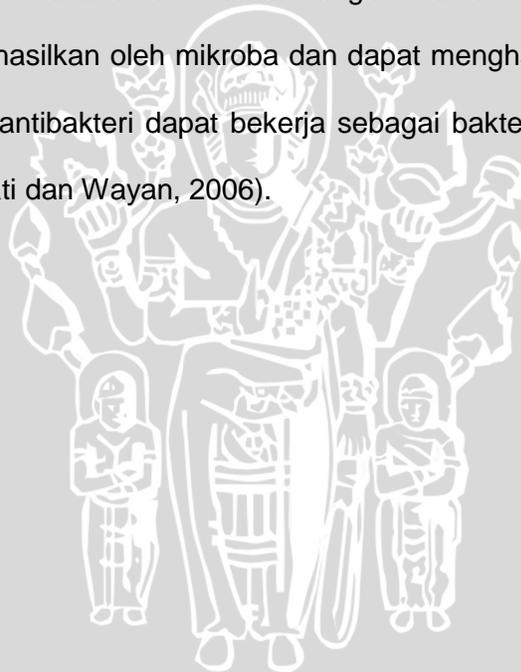
Menurut Nurhayati (2008), kromatografi Gas – Spektro Massa adalah analisis dilakukan dengan membandingkan konsentrasi massa atom dari spektrum yang dihasilkan. Prinsip kerja GC – MS yaitu senyawa sampel ditembak dengan arus listrik elektron sehingga menyebabkan senyawa terpisah menjadi fragmen yang merupakan muatan ion dengan massa tertentu. Massa fragmen jika dibagi muatan disebut perbandingan massa per muatan ( $M/Z$ ), yaitu mewakili berat molekul fragmen. Fragmen tertentu difokuskan melewati celah menuju detektor oleh empat elektromagnet (*quadropole*) yang diprogram oleh komputer. Siklus *quadropole* disebut *scan*, yang berlangsung berkali – kali perdetik. Komputer merekam grafik pada *scan*, dan grafik ini disebut spektrum massa. Komputer GC – MS memiliki literatur spektrum untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang tidak diketahui dengan membandingkan spektrum massa dari komponen sampel dengan literatur.

## 2.7 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektif, berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri, tetapi relatif tidak membahayakan bagi hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisida). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi

bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 1995).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa merusak dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteristatik, bakterisidal, dan bakterilitik (Kusmiyati dan Wayan, 2006).



## MATERI DAN METODE PENELITIAN

### 3.1 Materi Penelitian

#### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah rumput laut (*Sargassum duplicatum*) yang diperoleh dari perairan Jepara, Jawa Tengah. Bakteri yang digunakan yaitu biakan murni bakteri *Bacillus cereus* dengan kepadatan  $10^7$  koloni/mL yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : sebagai pelarut etanol pro analisis konsentrasi 96% dan dimetil sulfoksida ( DMSO ) konsentrasi 10%. Bahan- bahan pendukung yang digunakan adalah kertas cakram (paper disk) yang masing- masing berdiameter 6 mm, cotton swap, aquades, media NB merck (Nutrient Broth), media MHA merck (Mueller Hinton Agar), media TSA merck (tripton soy agar) untuk menumbuhkan *Bacillus cereus*, kertas saring, tissue, kertas label, alumunium foil, Nafis 0,9%, tali, alcohol, spiritus dan plastik.

#### 3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam ekstraksi senyawa antibakteri dari rumput laut (*Sargassum duplicatum*) adalah baskom, pisau, blender, timbangan digital, beaker glass, spatula, gelas ukur, inkubator oven. Alat- alat yang digunakan untuk pemisahan pelarut dari ekstrak adalah rotary vacuum evaporator merk Janke dan Kunkel RV 06-ML dan botol vial. Adapun alat- alat yang digunakan untuk uji cakram adalah autoklaf untuk sterilisasi alat, pinset, cawan petri, Bunsen, sprayer, jangka sorong dan inkubator. Untuk identifikasi kandungan senyawa aktif di dalam ekstrak *Sargassum duplicatum* digunakan alat GC-MS (Gas Cromatography- Mass

Spectrometry) yang terdapat pada Laboratorium Forensik Polda Jatim Surabaya Jawa Timur.

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada pelaksanaan penelitian ini adalah metode Kuantitatif. Metode ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari penggunaan konsentrasi berbeda pada ekstrak terhadap kualitas antibakteri. Indikator yang ingin dicapai adalah adanya perbedaan diameter zona bening (zona penghambatan bakteri) pada setiap konsentrasi yang diberikan dimana semakin lebar zona bening maka, semakin efektif senyawa antibakteri dari sampel.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian konsentrasi pada ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan menggunakan ampisilin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Sedangkan variable terikat pada penelitian ini adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri terhadap *B. cereus* yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram. Pengukuran diameter daya hambat ini dinyatakan dalam satuan millimeter (mm).

#### 3.2.1 Parameter Uji

Parameter uji yang dilakukan adalah dengan parameter kuantitatif berdasarkan luas zona hambat yang dihasilkan. Untuk mengetahui perbandingan dengan kontrol dilakukan pengukuran zona hambat dari masing-masing konsentrasi yang berbeda, bertujuan untuk mengetahui zona hambat terbaik yang dihasilkan dari konsentrasi berbeda. Menurut Windarwati (2011), diameter penghambatan adalah selisih antara diameter areal bening yang terbentuk dengan diameter sumur. Hasil zona bening yang terbentuk menurut Greenwood (1995), dapat diklasifikasikan sesuai dengan Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi Respon Daya Hambat

Dayahambat antibakteri	Kategori daya hambat antibakteri
$\geq 20$ mm	Sangat kuat
10 - 20 mm	Kuat
5 - 10 mm	Sedang
$\leq 5$ mm	Lemah

Sumber : Greenwood, 1995

### 3.2.2 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan di laboratorium dianalisa secara deskriptif dengan menggambarkan aspek-aspek yang berkaitan dengan lingkup perikanan dan ilmu kelautan. Data yang diperoleh seperti jumlah rata-rata zona bening pada mikroba yang diujikan.

### 3.3 Prosedur Penelitian

Alur proses penelitian diawali dengan persiapan sampel dan dilanjutkan dengan ekstraksi. Metode yang digunakan pada prosedur persiapan sampel berdasarkan penelitian Rinawati (2012), yaitu pencucian dilakukan dengan menggunakan air tawar (air pam) dan dibilas dengan aquadest dan kemudian diangin-anginkan. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa mineral dan bakteri dalam sampel. *S. duplicatum* di keringkan dibawah sinar matahari kemudian dipotong kecil-kecil (kira-kira 1-2 cm) serta diblender agar mudah diekstraksi. Selanjutnya rumput laut yang sudah diblender tadi ditimbang sebanyak 200 gram menggunakan timbangan digital ketelitian  $10^{-2}$ .

Pada tahap selanjutnya yaitu metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi. Sampel *S. duplicatum* halus dimasukkan ke dalam pelarut polar yaitu etanol dengan perbandingan antara sampel dan pelarut adalah 1:3 (200 gr : 600 ml)

(b/v). Selanjutnya larutan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang (27<sup>0</sup>C) di ruang gelap yang mengacu pada penelitian Rohmah (2010). Hal ini bertujuan untuk melepaskan senyawa bioaktif. Setelah perendaman, larutan disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrate (cair) dan residu (padat). Filtrat ditampung dalam botol vial dan ditimbang beratnya untuk mengetahui rendemen hasil ekstraksi. Kemudian filtrate dikentalkan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator untuk memisahkan pelarut dari ekstrak pada suhu 40-50<sup>0</sup>C dengan kecepatan putaran 5 (skala 1-10) pada tekanan 200 mBar. Selanjutnya ekstrak dilarutkan dengan DMSO 10% pada konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm dan 15000 ppm, dimasukkan dalam botol vial sehingga didapatkan ekstrak dari *S. duplicatum*.

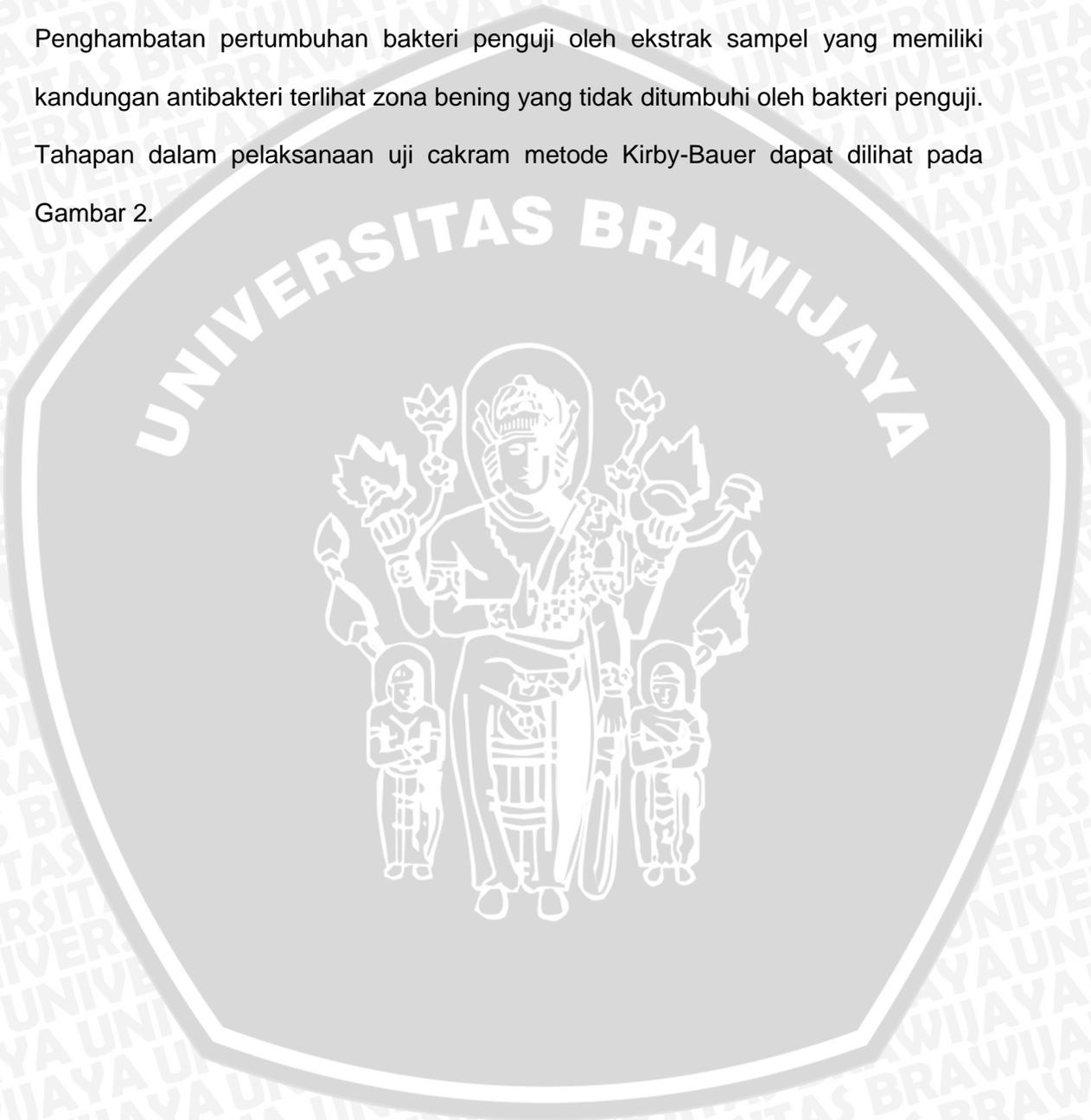
### 3.3.1 Uji Cakram

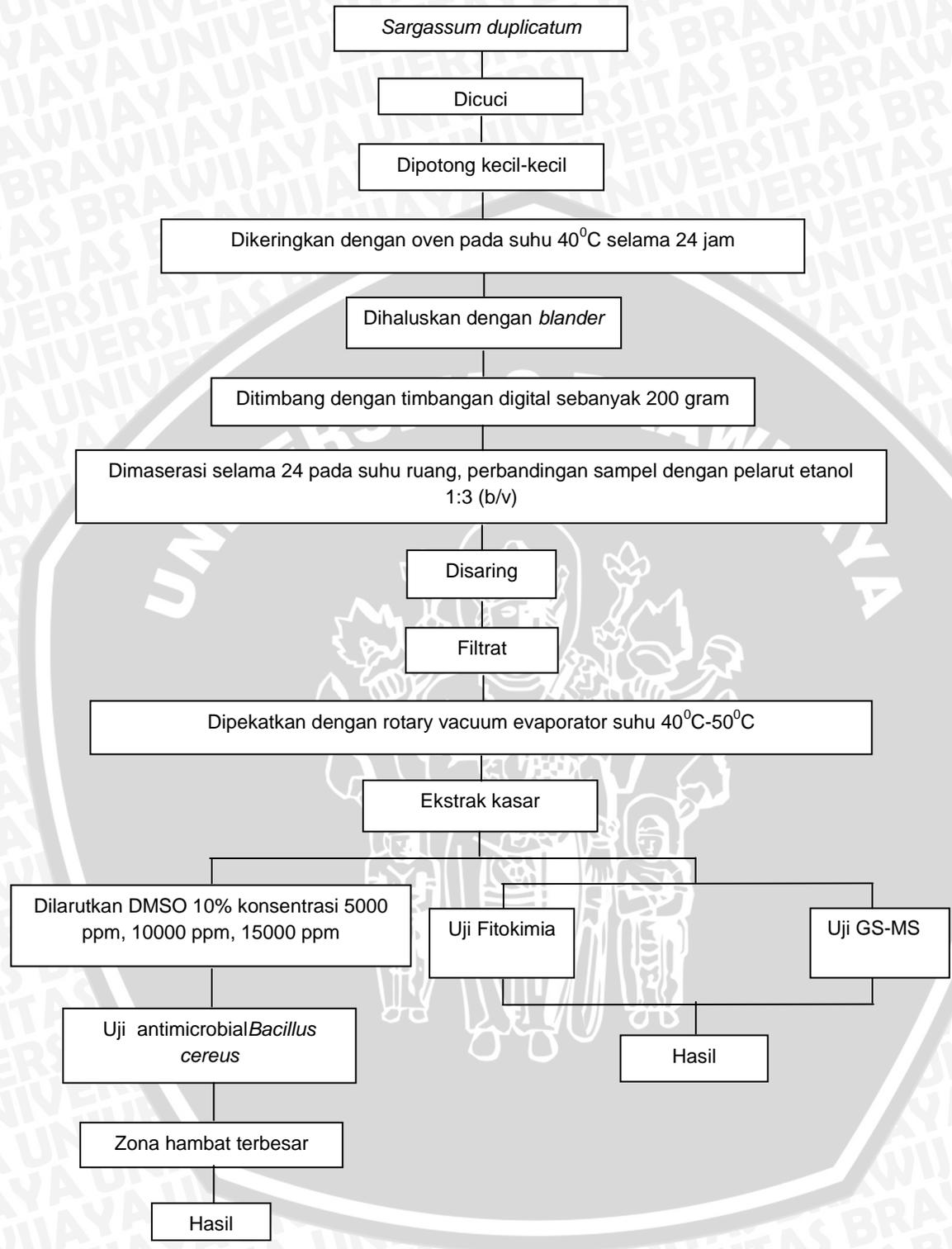
Menurut Wiyanto (2010), uji cakram yang distandarisasikan (Kirby-Bauer, 1966) merupakan cara untuk menentukan sensitivitas antibakteri. Sensitivitas suatu bakteri terhadap antibakteri ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk. Langkah awal yang dilakukan pada uji cakram yaitu menyiapkan media pertumbuhan bakteri uji. Media yang digunakan ada 2 macam, yakni media TSA untuk menumbuhkan bakteri *Bacillus cereus* dan media MHA untuk uji cakram.

Kertas cakram direndam dalam zat antimikroba dari ekstrak dengan berbagai konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm dan 15000 ppm dengan menggunakan pelarut DMSO 10% selama 15-30 menit, hal ini berpacu dengan penelitian Wiyanto (2010). Prosedur pembuatan DMSO 10% dan konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm dan 15000 ppm dapat dilihat pada Gambar 2.

Kemudian, kertas cakram yang telah direndam dalam zat antimikroba ditempelkan pada lempeng MHA dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.

Diamati dan diukur zona penghambatan yang terdapat pada masing-masing cakram. Pengukuran zona penghambatan dilakukan dengan mengukur diameter. Zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan jangka sorong. Penghambatan pertumbuhan bakteri penguji oleh ekstrak sampel yang memiliki kandungan antibakteri terlihat zona bening yang tidak ditumbuhi oleh bakteri penguji. Tahapan dalam pelaksanaan uji cakram metode Kirby-Bauer dapat dilihat pada Gambar 2.





Gambar 2. Skema Uji Antibakteri dan Uji Kuantitatif Ekstrak *Sargassum duplicatum*

Sumber : Anggana, 2013

### 3.3.2 Uji GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

Uji GC-MS dilakukan untuk mengetahui senyawa daya antibakteri dari konsentrasi ekstrak yang terbaik terhadap bakteri *Bacillus cereus*. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injector 290°C. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC. Prosedur kerja kromatografi didasarkan pada pemisahan campuran dua atau lebih senyawa yang berbeda yang terdistribusi antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Solut-solut yang mudah menguap (dan stabil terhadap panas) bermigrasi melalui kolom yang memiliki fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya.

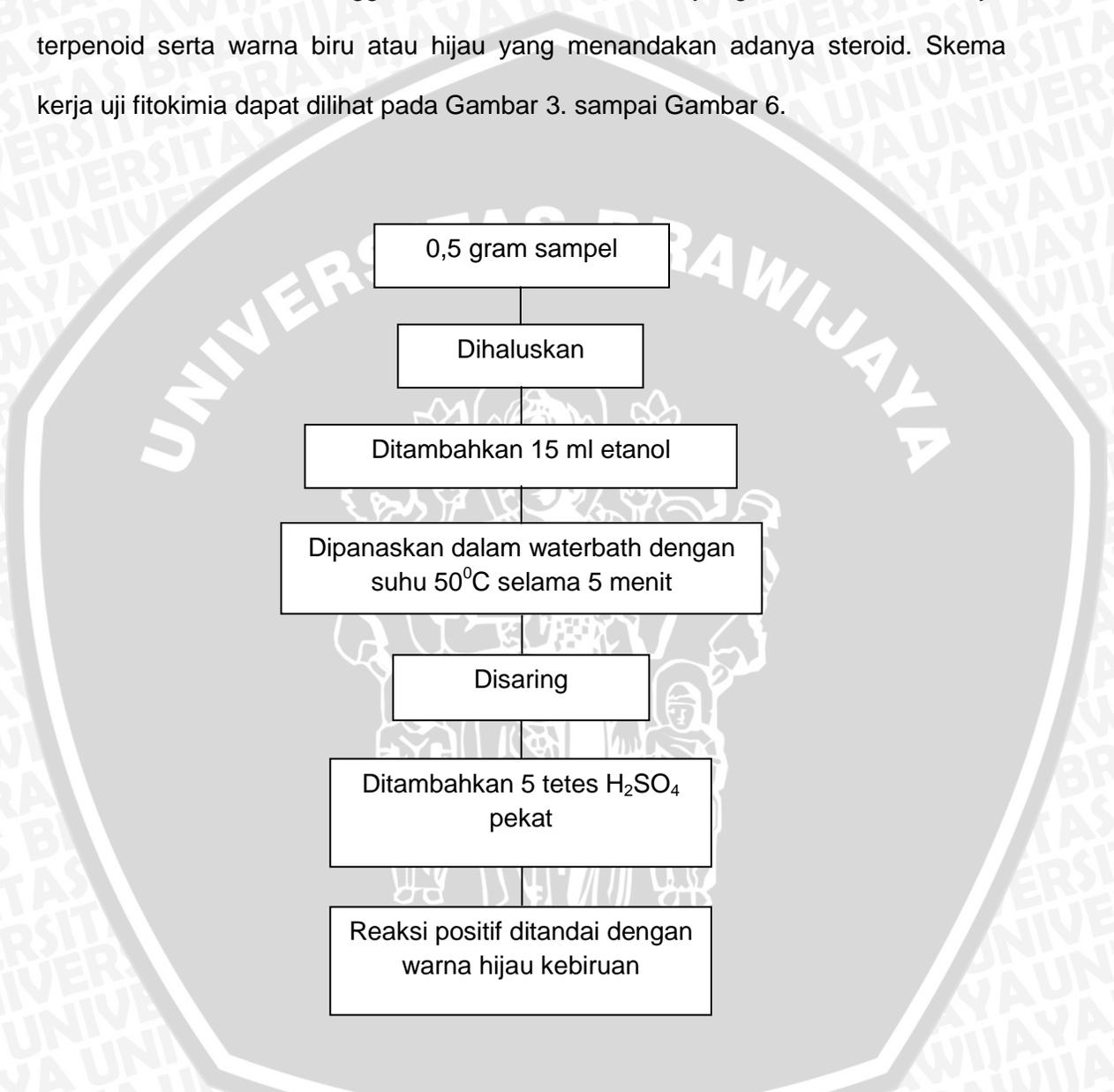
### 3.3.3 Uji Fitokimia

Analisis fitokimia identifikasi yang dilakukan adalah uji alkaloid, tanin, polifenol, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan glikosida. Uji alkaloid menurut Culvenor (1963), yaitu sampel yang telah halus dilarutkan dalam kloroform sebanyak 10ml dan ditambahkan 10ml amoniak 0,05 N serta ditambahkan asam sulfat 2 N sebanyak 10 tetes kemudian ditambahkan pereaksi Mayer, adanya alkaloid ditandai dengan munculnya endapan putih.

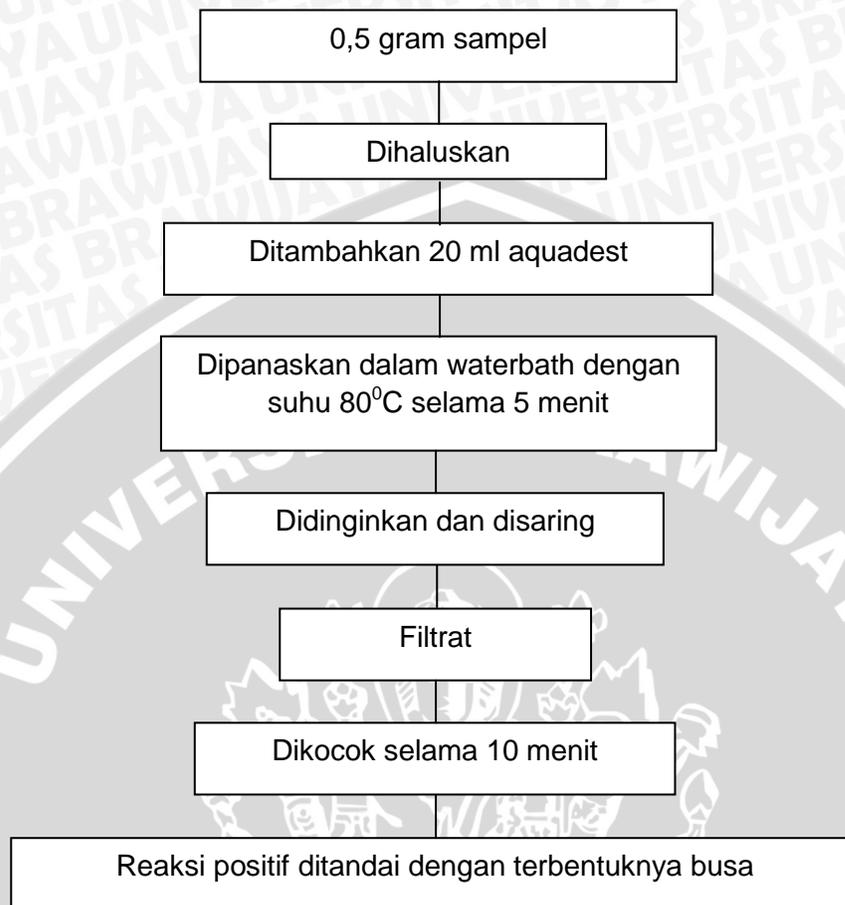
Untuk uji tanin, polifenol, flavonoid dan glikosida dilakukan menurut Harborne (2006), yaitu sampel dididihkan kemudian disaring dan ditambahkan FeCl<sub>3</sub>, adanya warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya tanin. Uji polifenol sampel dilakukan dengan menambahkan gelatin dan diamati endapan proteinnya.

Pada analisa uji saponin, triterpenoid dan steroid dilakukan menurut Simes et., al (1995), yaitu untuk uji saponin sampel halus dididihkan dengan etanol sebanyak 25ml dan diuapkan kemudian ditambahkan kloroform dan terbentuk

lapisan air dan kloroform. Lapisan air dikocok kuat-kuat sehingga terbentuk busa yang menunjukkan adanya saponin. Pada lapisan kloroform ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard sehingga terbentuk warna merah yang menandakan adanya terpenoid serta warna biru atau hijau yang menandakan adanya steroid. Skema kerja uji fitokimia dapat dilihat pada Gambar 3. sampai Gambar 6.

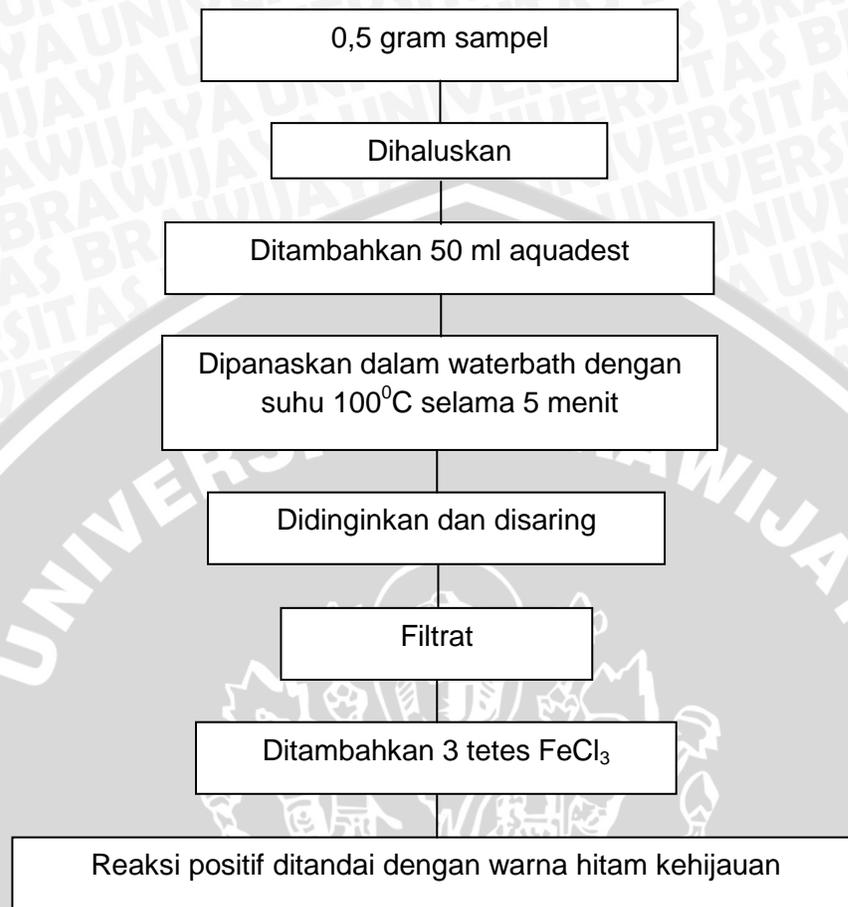


Gambar 3. Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid  
Sumber : Harborne, 1987



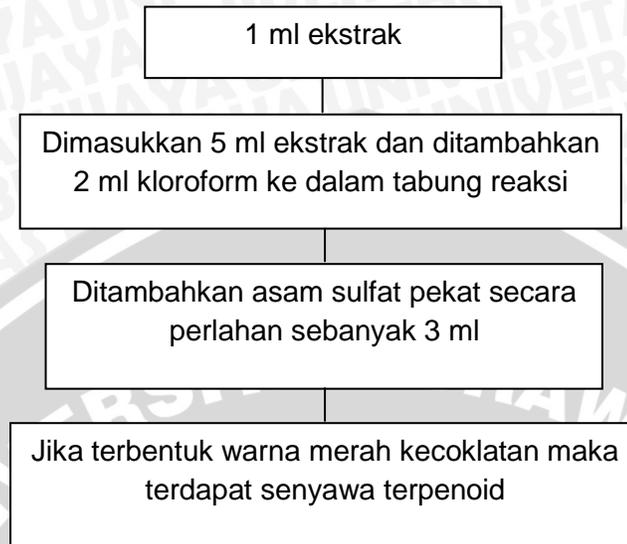
Gambar 4. Uji Fitokimia Senyawa Saponin

Sumber : Harborne, 1987



Gambar 5. Uji Fitokimia Senyawa Tanin

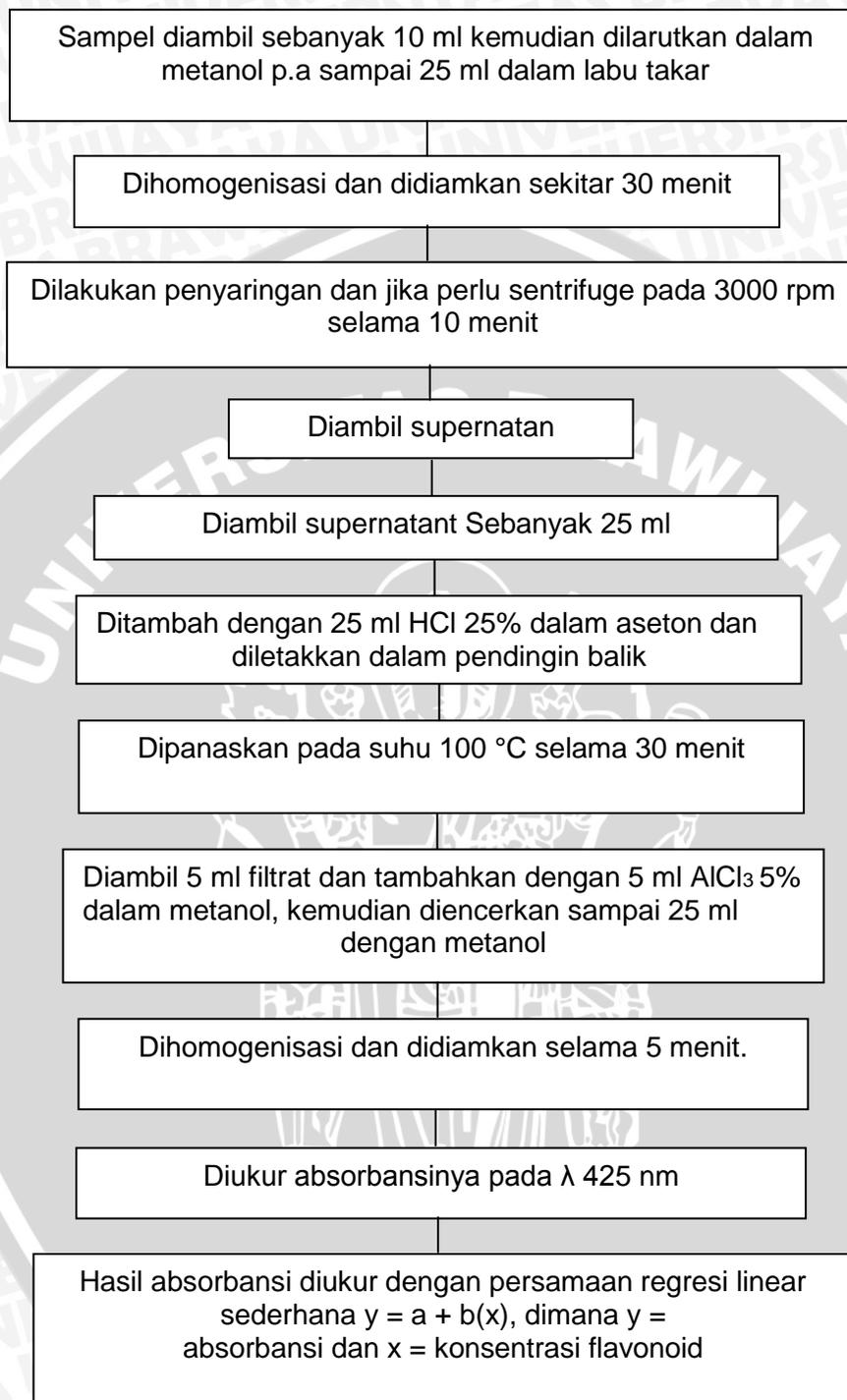
Sumber : Harborne, 1987



Gambar 6. Uji Fitokimia Senyawa Terpenoid

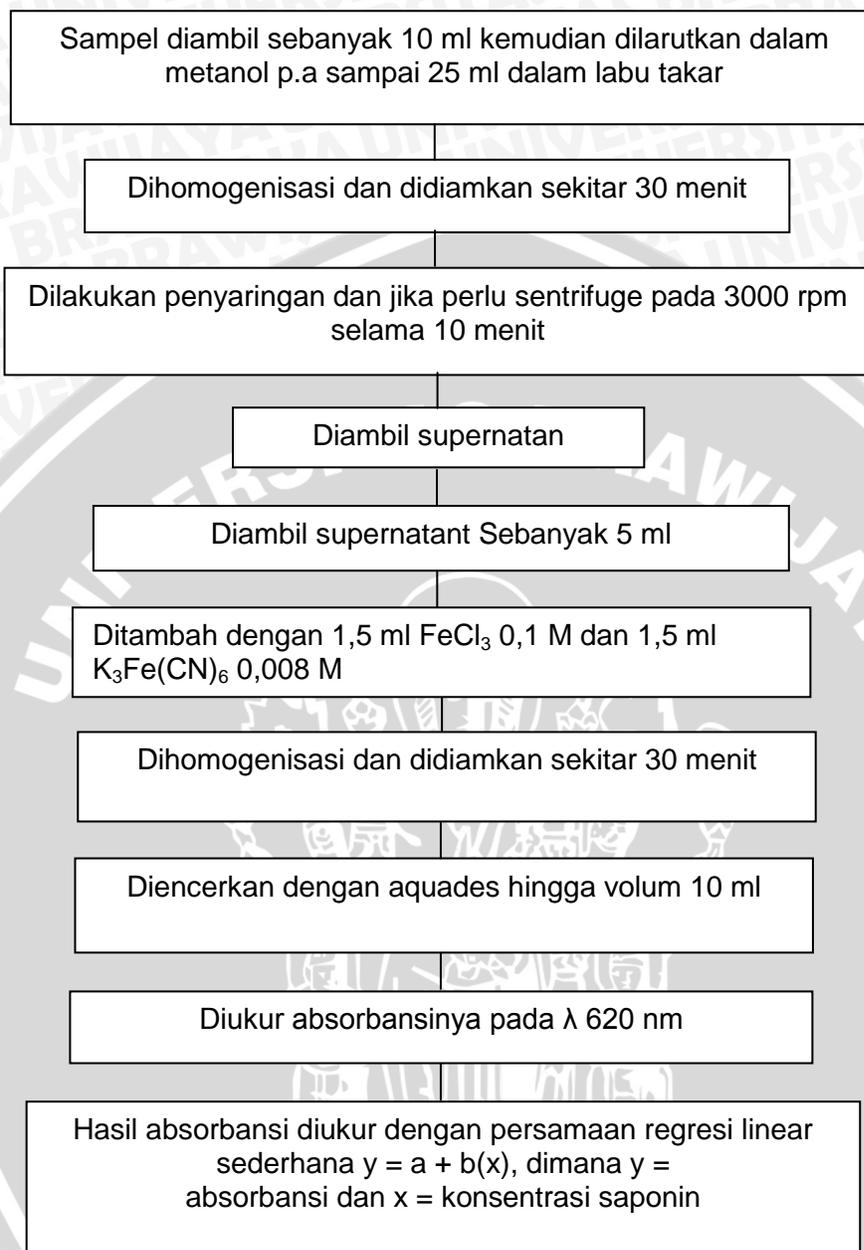
Sumber : Harborne, 1987

Selain dilakukan uji fitokimia secara kualitatif, seperti yang terlihat pada gambar 3. sampai gambar 6 yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa bioaktif. Dalam penelitian ini juga dilakukan pengujian fitokimia metode kuantitatif pada ekstrak rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* yang bertujuan untuk mengetahui tinggi rendahnya suatu senyawa fitokimia yang terkandung pada ekstrak tersebut. Tahapan uji fitokimia metode kuantitatif dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



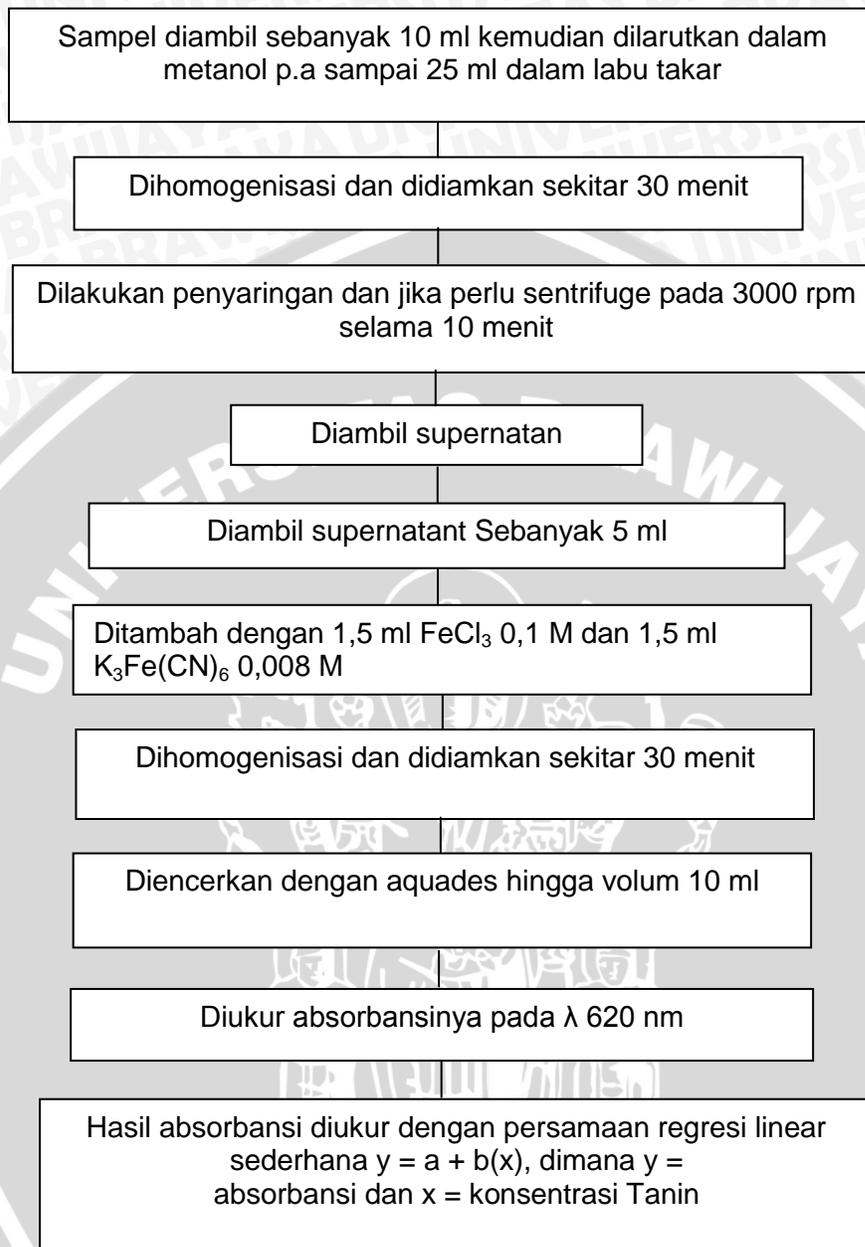
Gambar 7. Uji Flavonoid metode spektrofotometri

Sumber : Lab Kimia UMM, 2015



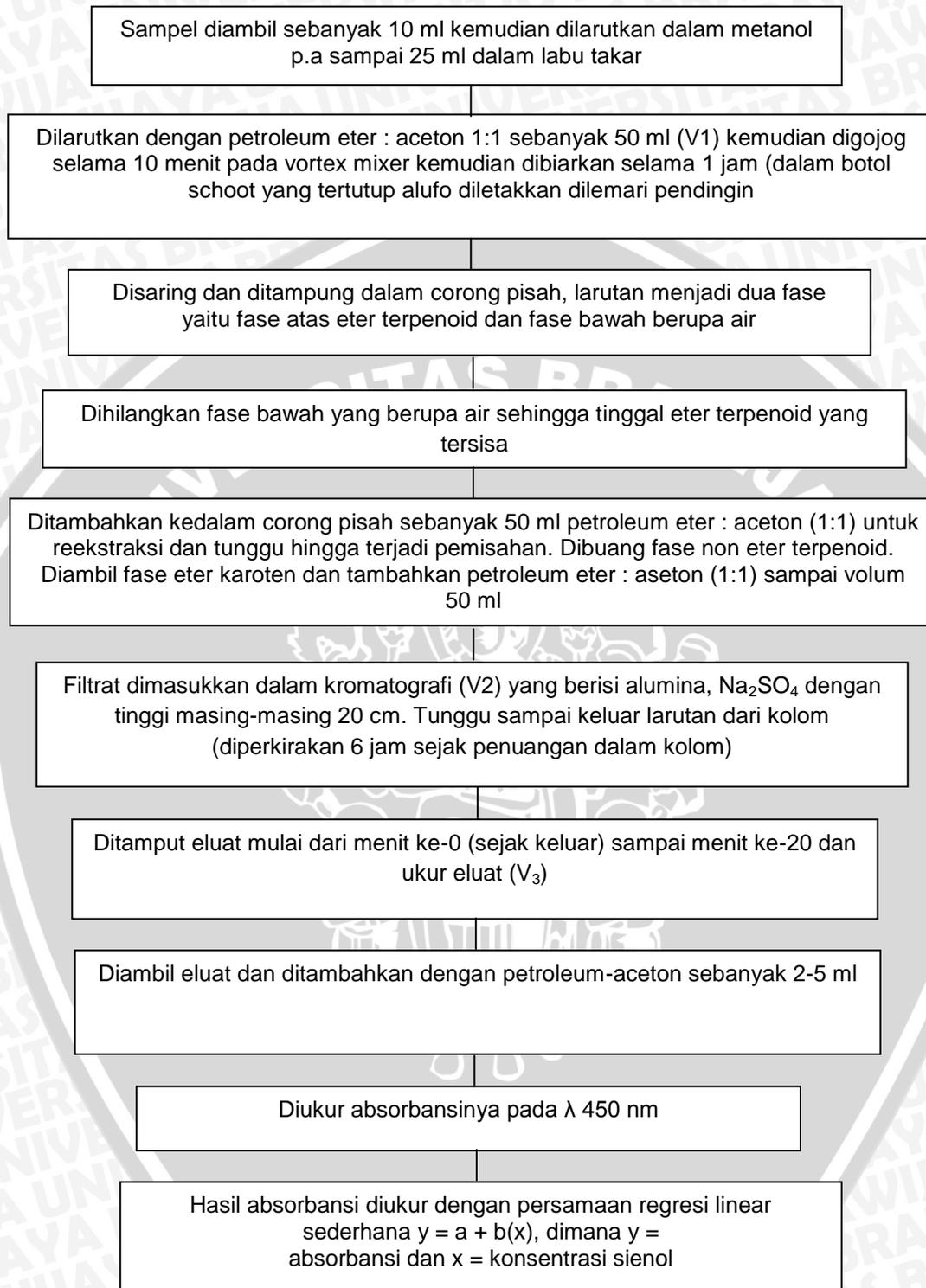
Gambar 8. Uji Saponin metode spektrofotometri

Sumber : Lab Kimia UMM, 2015



Gambar 9. Uji Tanin metode spektrofotometri

Sumber : Lab Kimia UMM, 2015



Gambar 10. Uji Terpenoid metode Kromatografi spektrofotometri

Sumber : Lab Kimia UMM, 2015

## HASIL DAN PEMBAHASAN

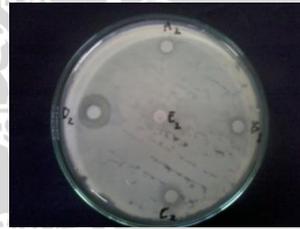
### 4.1 Uji Antibakteri

Pada uji antibakteri ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* terhadap bakteri *Bacillus cereus* menggunakan pelarut etanol *pro analisis* 96%. Penelitian tersebut menggunakan metode perbandingan sampel terhadap pelarut 1:3 (b/v) dengan variasi konsentrasi ekstrak 5000 ppm, 10000 ppm, 15000 ppm. Media uji yang digunakan adalah MHA (Mueller Hinton Agar) dan media pengujian kertas cakram sebagai uji daya hambatnya. Berikut hasil uji daya hambat dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

a) Ulangan I



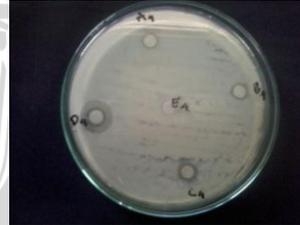
b) Ulangan II



c) Ulangan III



d) Ulangan IV



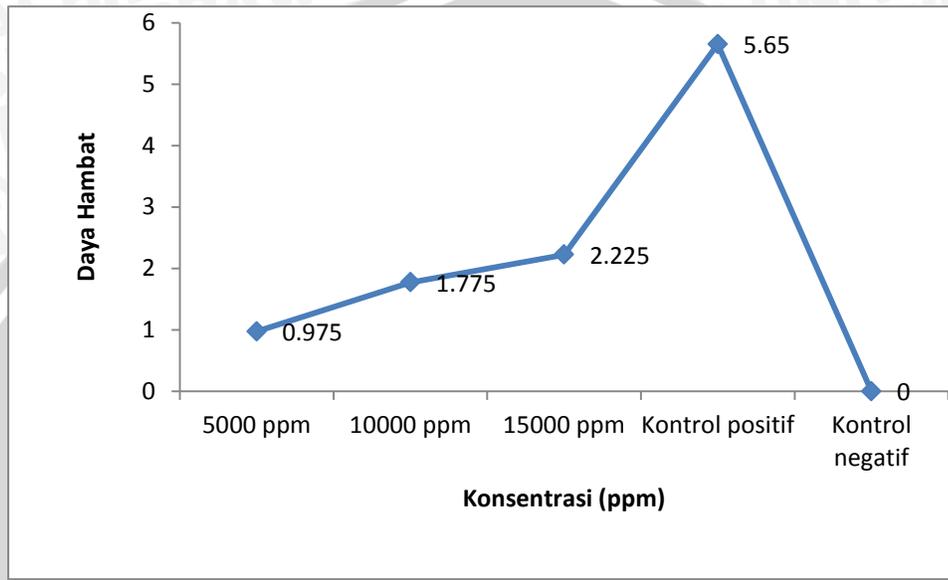
Keterangan :

- A = ekstrak *Sargassum duplicatum* konsentrasi 5000 ppm
- B = ekstrak *Sargassum duplicatum* konsentrasi 10000 ppm
- C = ekstrak *Sargassum duplicatum* konsentrasi 15000 ppm
- D = kontrol positif ampisilin
- E = kontrol negatif DMSO 10%

Gambar 11. Zona bening *Bacillus cereus* dari berbagai konsentrasi ekstrak *Sargassum duplicatum*

Sumber: Husen, 2015

Berikut adalah grafik hasil rata-rata uji daya hambat ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan berbagai konsentrasi terhadap *Bacillus cereus*. Rata-rata hasil uji daya hambat didapatkan dari empat kali uji daya hambat sebagai berikut.



Rata-rata diameter daya hambat pada konsentrasi 5000 ppm sebesar 0.0975 mm. Rata-rata diameter daya hambat pada konsentrasi 10000 ppm sebesar 1.775 mm. Rata-rata diameter daya hambat pada konsentrasi 15000 ppm sebesar 2.225 mm. Sedangkan rata-rata diameter daya hambat pada kontrol positif ampisilin 5000 ppm sebesar 5.65 mm. Sementara rata-rata diameter daya hambat kontrol negatif DMSO 10% adalah 0,0 mm.

Pada ekstrak rumput laut coklat konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm dan 15000 ppm dari keempat ulangan yang dilakukan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka, rata-rata diameter zona hambat semakin besar. Ini membuktikan rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* mengandung senyawa antibakteri walaupun masih lemah.

Hasil zona bening yang terbentuk menurut Greenwood (1995), dapat diklasifikasikan sesuai dengan Tabel 4.

Tabel 4. Klasifikasi Respon Daya Hambat

Dayahambat antibakteri	Kategori daya hambat antibakteri
$\geq 20$ mm	Sangat kuat
10 - 20 mm	Kuat
5 - 10 mm	Sedang
$\leq 5$ mm	Lemah

Sumber : Greenwood (1995)

Menurut Anacarso (2014), zat antibakteri bisa diperoleh dari selain tumbuhan, seperti bakteri asam laktat *Lactobacillus pentosus* 39 contohnya, mempunyai zat antibakteri yang disebut substansi bakteriosin atau *Bacteriocin-like substance (BLS)*. Berikut adalah tabel 5. yang menunjukkan aktivitas daya hambat bakteri *Lactobacillus pentosus* 39 terhadap beberapa strain bakteri patogen.

Tabel 5. Aktivitas daya hambat bakteri *Lactobacillus pentosus* 39 terhadap beberapa strain bakteri patogen.

Strain Indikator	
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 10890	+++
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19113	+++
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114	+++
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19117	+++
<i>Aeromonas hydrophila</i> IM 108	+
<i>Aeromonas hydrophila</i> IM 104	++
<i>Aeromonas hydrophila</i> IM 106	++
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 14715	++

Sumber : Anacarso *et. Al.*, (2014)

Keterangan :

- Daya hambat = +, 5 mm < diameter daya hambat < 10 mm
- Daya hambat = ++, 10 mm < diameter daya hambat < 15 mm
- Daya hambat = +++, diameter daya hambat > 15 mm

#### 4.2 Kandungan Fitokimia Ekstrak *Sargassum duplicatum*

Pada penelitian ini dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui ada tidaknya senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan fenol. Berikut ini hasil uji fitokimia ekstrak *Sargassum duplicatum* disajikan dalam bentuk tabel 6.

Tabel 6. Kandungan Fitokimia *Sargassum duplicatum*

Jenis pengujian	Hasil pengujian	Total (ppm) /0,112 gram sampel
Flavonoid	+ (ada)	34712,302
Tanin	+ (ada)	14760,461
Saponin	+ (ada)	639,825
Terpenoid	+ (ada)	1430,725

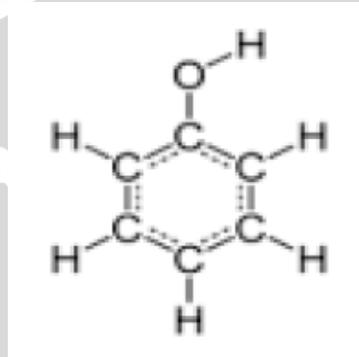
Sumber : laboratorium kimia Universitas Muhammadiyah Malang, 2015

Dari tabel 6. Menunjukkan bahwa *Sargassum duplicatum* mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, terpenoid, dan fenol. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya menurut Tri dan Asnani (2012), *Sargassum duplicatum* mengandung senyawa flavonoid, tannin, saponin, dan terpenoid.

#### 4.2.1 Flavonoid

Flavonoid adalah gugus senyawa yang mempunyai bentuk  $C_3 - C_6 - C_3$ . Mekanisme kerja senyawa flavonoid adalah dengan merusak protein sel bakterii serta merusak membrane sel tanpa dapat diperbaiki lagi oleh sel bakteri. Flavonoid juga bersifat lipofilik yang akan merusak membran mikroba. Didalam flavonoid juga terdapat senyawa fenol. Fenol disebut juga asam karbolat artinya fenol adalah alkohol yang bersifat asam, sifat asam ini dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Senyawa fenol memiliki kemampuan merusak protein dan membran sel bakteri. Ciri khas senyawa fenol adalah memiliki gugus OH (Dwyana *et all.*, 2012).

Menurut Sastrohamidjojo (2007), Flavonoid adalah senyawa yang mengandung gugus  $C_{15}$  terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Cincin A memiliki karakteristik bentuk hidroksilasi phlorogusinol atau resorsinol dan cincin B biasanya 4,3,4 atau 3,4,5 terhidroksilasi.



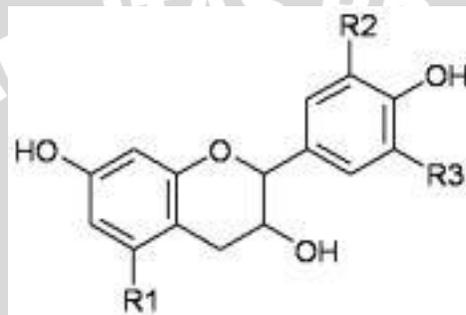
Gambar 12. Struktur Flavonoid  $C_6H_5OH$

Sumber : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (2015)

#### 4.2.2 Tanin

Tanin adalah senyawa organik yang sangat kompleks dalam bentuk campuran polifenol yang sukar dipisahkan sehingga sukar mengkristal. Senyawa tanin banyak terdapat pada bermacam-macam tumbuhan. Tanin bersifat amorf dan mempunyai daya yang menyamak kulit. Struktur tanin belum bisa ditentukan secara pasti, namun diartikan sebagai senyawa-senyawa alami dengan bobot molekul antara 500-3000, serta mempunyai gugus hidroksil fenolik (1-2 tiap 100 satuan bobot molekul) dan dapat membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan biopolimer lain (Fachry *et al.*, 2012). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakterii adalah menghambat kerja enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009).

Tanin mempunyai sifat astringen daya perangsang. Tanin digunakan sebagai obat luar dan juga dalam. Sebagai obat luar, tanin digunakan untuk merawat dan menyembuhkan bengkak, luka, pendarahan, inflamasi, dan luka bakar. Tanin digunakan sebagai obat dalam untuk merawat dan menyembuhkan diare, diabetes, pendarahan dan lain sebagainya. Tanin bereaksi dengan protein mengakibatkan protein mengeras. Tanin juga mempunyai sifat antinutrien (Chooi, 1949).



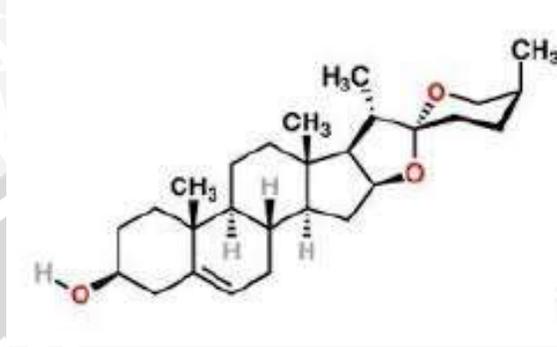
Gambar 13. Struktur Tanin ( $C_{76}H_{52}O_{46}$ )

Sumber : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (2015)

#### 4.2.3 Saponin

Rumus molekul saponin adalah  $C_{27}H_{42}O_3$  (Chemical, 2010). Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, memiliki karakteristik dapat membentuk buih sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka, akan terbentuk buih yang bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan (Hartono, 2009). Menurut Robinson (2005), mekanisme saponin sebagai senyawa antibakterii yaitu menurunkan

tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan senyawa intraseluler akan keluar.

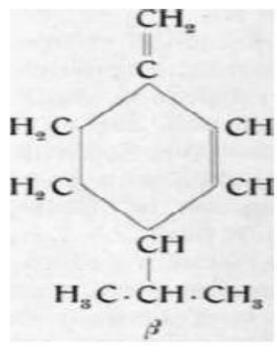


Gambar 14. Struktur Saponin ( $C_{27}H_{42}O_3$ )

Sumber : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (2015)

#### 4.2.4 Terpenoid

Terpena adalah senyawa hidrokarbon yang mempunyai struktur umum  $C_{10}H_{16}$  dan terdapat dalam bentuk diterpena, triterpena, tetraterpena, dan sesquiterpena berturut-turut dengan  $C_{20}$ ,  $C_{30}$ ,  $C_{40}$ ,  $C_5$ , dan  $C_{15}$ . Terpena yang mengandung elemen lain seperti oksigen disebut juga terpenoid. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan protein transmembran pada dinding luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga berakibat rusaknya protein transmembran. Rusaknya protein transmembran ini merupakan pintu keluar masuknya senyawa, akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi. Sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan,1999).

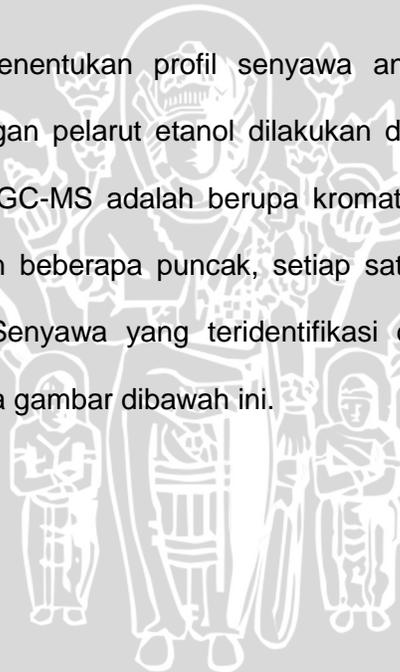


Gambar 15. Struktur Terpenoid (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>)

Sumber : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (2015)

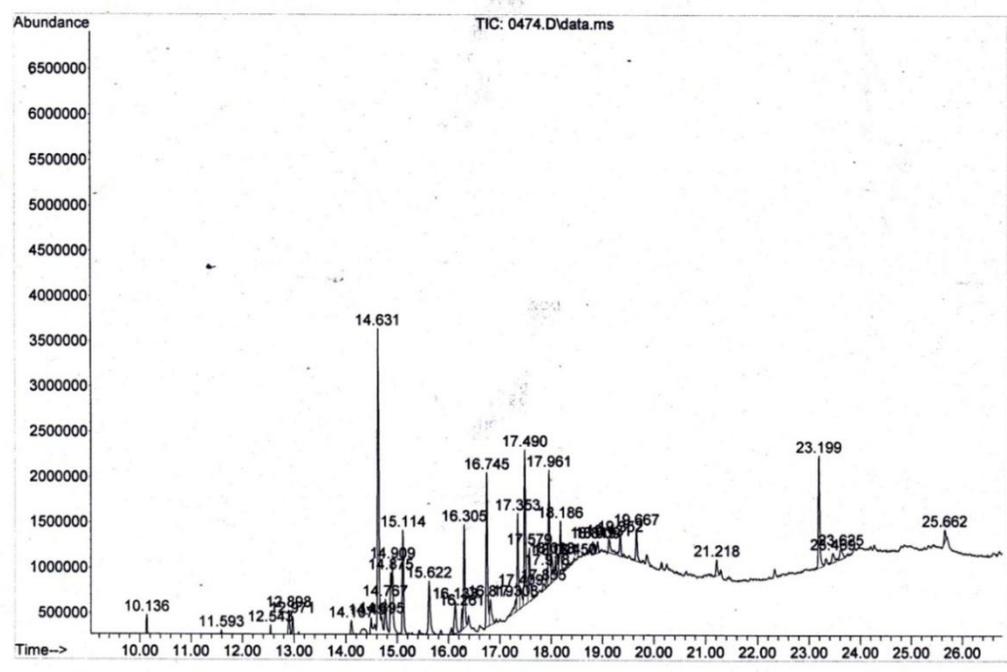
#### 4.3 Identifikasi Senyawa Aktif

Identifikasi untuk menentukan profil senyawa antibakteri dalam ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan pelarut etanol dilakukan dengan menggunakan uji GC-MS. Adapun hasil dari GC-MS adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu atau dua jenis senyawa. Senyawa yang teridentifikasi dari ekstrak *Sargassum duplicatum* dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



```

File       :D:\Data\2015\0474.D
Operator  : Che2
Acquired   : 29 May 2015  7:12      using AcqMethod NARKOBA.M
Instrument : GCMSD5975C
Sample Name: Sampel rumput laut coklat Sargassum Duplicatu
Misc Info  : Moh. Husen Jailani - UB.
Vial Number: 1
    
```



Gambar 16. Spektra Gas Kromatografi Ekstrak *Sargassum duplicatum*

Sumber : Lab. Forensik Polda Jatim, 2015

Berdasarkan hasil kromatogram tersebut ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan pelarut etanol mengandung 41 senyawa aktif dengan ditunjukkan oleh puncak yang terbentuk pada hasil GC-MS pada gambar 16. Diatas. Dari data identifikasi tersebut diambil empat senyawa dengan puncak-puncak tertinggi. Puncak-puncak tertinggi yang muncul menunjukkan adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum duplicatum*. Berikut disajikan empat senyawa dengan puncak tertinggi yang berhasil diidentifikasi dalam bentuk tabel dengan keterangan waktu retensi, presentasi area, dan urutan puncak.

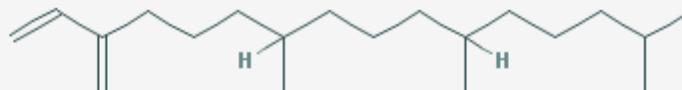
Tabel 7. Empat Senyawa Tertinggi Hasil Analisis GC-MS Ekstrak *Sargassum duplicatum*

Jenis Senyawa (IUPAC)	Waktu retensi	Persentase area (Kelimpahan)	Urutan puncak ke
Neophytadiene	14,631	14,17	8
Phytol	17,490	7,05	23
n-Propyl 9-octadecenoate	17,961	5,05	27
Squalene	23,199	5,14	38

Sumber : Laboratorium Forensik dan Narkoba Polda Jatim, 2015

#### 4.3.1 Neophytadiene

Neophytadiene adalah senyawa kuat yang bersifat bakterisidal atau dapat membunuh bakteri. Neophytadiene dikategorikan sebagai senyawa terpenoid yang dapat bersifat antifungal yang artinya dapat menghambat bahkan membunuh jamur. Secara umum neophytadiene berfungsi sebagai antipyretic, analgesic, antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan. Neophytadiene mempunyai rumus molekul  $C_{20}H_{38}$  (Raman *et al.*, 2012). Menurut Matamoros *et al.* (2013), Neophytadiene adalah senyawa diterpenoid. Senyawa ini disebut juga 3-metil-7,11,15, 15-trimetil hexadecen-1-ene.

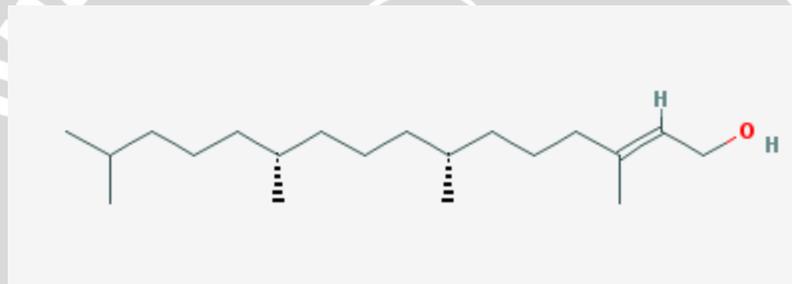


Gambar 17. Struktur Kimia Neophytadiene ( $C_{20}H_{38}$ )

Sumber : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (2015)

### 4.3.2 Phytol

Phytol adalah senyawa alkohol diterpena yang didapatkan dari klorofil tumbuhan. Phytol disebut juga 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol. Phytol termasuk senyawa aromatic sehingga dapat digunakan sebagai bahan campuran membuat minyak wangi dan kosmetik. Dibidang lain, phytol dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan makanan karena phytol bersifat nonmutagenik. Phytol juga dapat fungsikan sebagai antiseptic, antibakteri, antiinflamasi, antialergi, antioksidan, dan perangsang imun (Moraes *et all.*, 2014).

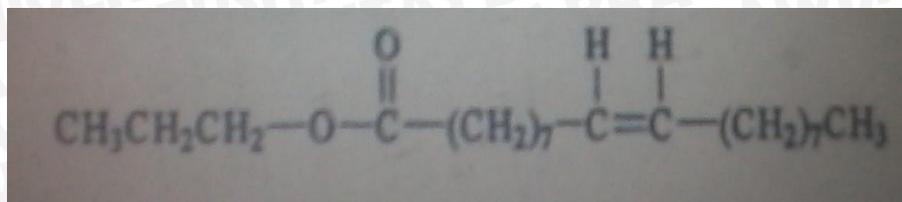


Gambar 18. Struktur Kimia Phytol ( $C_{20}H_{40}O$ )

Sumber : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (2015)

### 4.3.3 Propil Oleat

Propil oleat termasuk golongan dari lemak dan minyak yang terdapat pada hewan dan tumbuhan. Propil oleat pada hewan contohnya terdapat pada lemak daging sapi, sementara pada tumbuhan terdapat pada minyak jagung, minyak biji katun, lemak babi, minyak olive, minyak palm, dan minyak kacang. Propil oleat terbentuk melalui proses saponifikasi dari gliserida. Propil oleat mempunyai rumus kimia  $C_{21}H_{40}O_2$  (Slade, 1998).

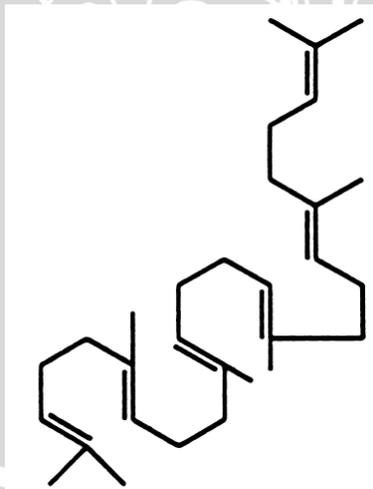


Gambar 19. Struktur Propil Oleat (C<sub>21</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub>)

Sumber : Dekker, 1998

#### 4.3.4 Squalene

Squalene adalah senyawa yang berasal dari lipid. Squalene dapat ditemukan pada binatang dan tumbuhan. Pada binatang biasanya ditemukan dalam hati ikan hiu. Pada tumbuhan ditemukan didalam gandum, palm dan padi. Squalene mempunyai khasiat dapat digunakan untuk menyembuhkan kanker, meningkatkan system imun, mengatur kadar kolestrol dan melindungi kulit dari radiasi serta toxin (Fife, 2007). Menurut Rao *et all.* (1998), squalene adalah senyawa hidrokarbon dari golongan triterpen yang tersusun dari enam isoprena, dapat dilihat pada gambar 20.



Gambar 20. Struktur isoprena pada squalene (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>)

Sumber : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (2015)

## PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Hasil yang didapatkan dari penelitian aktivitas antibakteri ekstrak *Sargassum duplicatum* terhadap bakteri *Bacillus cereus* dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Ekstrak *Sargassum duplicatum* menghasilkan daya hambat antibakteri terbaik terhadap *Bacillus cereus* menggunakan pelarut etanol pada konsentrasi 15000 ppm dengan rata-rata 3,0 mm
- Hasil uji fitokimia dari *Sargassum duplicatum* adalah flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Dengan hasil ini ekstrak *Sargassum duplicatum* sudah bisa dikatakan sebagai bahan antibakteri
- Hasil pengujian GC-MS dari ekstrak *Sargassum duplicatum* dengan pelarut etanol memiliki 41 titik puncak dan 4 senyawa dengan titik puncak tertinggi yaitu, squalene, phytol, propyl oleat, dan phytadiene.

### 5.2 Saran

Setelah saya melakukan penelitian ini, saran yang bisa saya berikan adalah untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak *Sargassum duplicatum* terhadap *Bacillus cereus* dapat menggunakan pelarut lain seperti methanol, dan Bakteri lain seperti bakteri *Vibrio Harvey*, *vibrio cholera*, *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus.*, *Salmonella thypii*, dan lain sebagainya.

### Daftar Pustaka

- Agustina F., Pambayun R., Febry F., 2009. Higiene Dan Sanitasi Pada Pedagang Makanan Jajanan Tradisional Di Lingkungan Sekolah Dasar Di Kelurahan Demang Lebar Daun Palembang Tahun 2009
- Agustin, Ni Wayan dan Kusmiyati.2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Cibinong Volume 8 Nomor 1 Halaman 48-53.
- Anacarso I, Messi P, Condo C, Iseppi R, Bondi M, Sabia C, Niederhausern. 2014. A bacteriocin-like substance produced from *Lactobacillus pentosus* 39 is a natural antagonist for the control of *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in fresh salmon fillets. *LWT - Food Science and Technology* 55 (2014) 604-611. Elsevier. Department of Life Sciences, University of Modena and Reggio Emilia, Via Campi, 287, 41125 Modena, Italy.
- Anggana P. M., 2013. Daya Hambat Ekstrak *Eucheuma spinosum* dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*
- Anggraini, 2013. Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut (*Sargassum duplicatum*) dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Bakteri *Salmonella typhii*. Fakultas perikanan. Universitas Brawijaya Malang.
- Badan POM RI 2015. Direktorat Obat Asli Indonesia. Diakses dari Internet.
- Bahar R, 2012. Ekstraksi alginat dari rumput laut *Sargassum sp.* Dan aplikasinya sebagai pengawet buah. Vol. 13 No. 1. ISSN 1411-2132. hal 16-20. Jurusan Kimia, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Chemical. 2010. Saponin. <http://www.Chemicalbook.com/ChemicalproductpropertyENCB9393639>. Htm. Diakses pada tanggal 21 Juni 2015.
- Chooi, Ong Hean. 2008. Rempah Ratus. Khasiat Makanan dan Ubatan. Perpustakaan Negara Malaysia. ISBN:978-967-61-2105-3.
- Cowan, M.M, 1999. Plant Product as Microbial Agent. *Clinical Microbiology Reviews*. Oxford. Miami. 12 (4). Hal 564-582.
- Dewanto, Mutripath S., Iskandar Y., dan Barliana M. I., 2013. Potensi Rumput Laut Coklat Jenis *Sargassum duplicatum* yang berasal dari Perairan Menganti-Kebumen sebagai Antiagregasi Platelet. Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran-Bandung
- Dian A. N., 2007. Ekstraksi komponen antibakteri dan antioksidan dari biji teratai (*Nymphaea pubescens willd*). Skripsi. Fakultas teknologi pertanian institut pertanian Bogor. Bogor

- Dian N. I., 2011. Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Turunan Terpenoid dari Kulit Batang Slatri (*Calophyllum soulattri* Brum.f). Skripsi. Digilib.UNS.ac.id. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Distantina S., Fadilah, Dyartanti E. R., dan Artati E. K., 2008. Pengaruh Rasio Berat Rumput Laut-Pelarut Terhadap Ekstraksi Agar-Agar. Jurusan Teknik Kimia FT Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Dwiyana, Z; Johanes, E. 2012. Uji Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma cottoni* Sebagai Antibakteri Terhadap Pathogen. Jurusan Biologi Fakultas MIPA. Universitas Hasanuddin, Makassar. Halaman 1-7.
- Fachry, A.R.; Sastrawan, RM Arief; Svingkoe, G. 2012. Prosiding Stnk Topi. ISSN.1907-0500. Pekanbaru. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik. Universitas Sriwijaya.
- Fatimah, S., I Haryati., A Jamaludin. 2009. Pengaruh Uranium Terhadap Analisis Thorium Menggunakan Spektrofotometer UV – Vis. Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir – Batan. Seminar Nasional V.
- Fife, Bruce. 2007. The Palm Oil Miracle. ISBN-13: 978-0-941599-65-8. Colorado Springs. USA.
- Greenwood. 1995. Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) test, Antimicrobial and Chemoteraphy. Mc Graw Hill Company, USA.
- Handayani T., Sutarno, Setyawan A. D., 2004. Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut *Sargassum crassifolium* J. Agardh. Biofarmasi2 (2): 45-52, ISSN: 1693-2242. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Hartono, T. 2009. Bahan Alam Fitokimia Saponin.Farmasi. Dikti. [Http://farmasi.dikti.net/saponin](http://farmasi.dikti.net/saponin). Diakses pada tanggal 20 Juni 2015.
- Hendayana S., K Asep., A.A Sumarna., S Asep. 1994. Kimia Analitik Instrumen Edisi Kesatu. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Kadi A., 2005. beberapa catatan kehadiran marga *Sargassum* diperairan indonesia., Volume XXX, Nomor 4, 2005 : 19 – 29. ISSN 0216-1877.
- Kurniawan, R., Salafudin., Nugraha, H., Sandi, F. 2010. Produksi Etanol Secara Sinambung dengan Sel Tertambat Menggunakan Bioreaktor Tangki Berpengaduk.Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri Itenas. Bandung. Halaman 1-8.
- Kusmiyati dan Wayan N. S. A., 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. Biodiversitas. ISSN: 1412-033X. Volume

8, Nomor 1 Halaman: 48-53. Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong 16911

Mardaningsih, F., Andriani, M. A. M., Kawiji. 2012. Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Suhu *Spray Dryer* Terhadap Karakteristik Bubuk Klorofil Daun Alfalfa (*Medicago sativa L.*) Dengan Menggunakan Binder Maltodekstrin. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Vol 1 No 1 halaman 110-117.

Maryati dan Sutrisno EM., 2008. Potensi Sitotoksik Tanaman Ceplukan (*Physalis Angulata L*) Terhadap Sel Hela Cytotoxic Effects Of *Physallis Angulata Plant* On Hela Cell Line. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Matamoros, AH; Gonzales, E; Garcia-Caso, JM; Tejada, JF. 2013. Determination of neophytadiene in the subcutaneous fat of Iberian pigs from different feeding systems. ISSN:0017-3495. Special Issue, 173-180. Food Technology and Biochemistry, Escuela de Ingenierias Agrarias, Universidad de Extremadura. Spain.

Melki, Wike A. E. P., Kurniati, 2012. Uji Antibakteri Ekstrak *Gracilaria sp* (Rumput Laut) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. FMIPA Universitas Sriwijaya.

Moraes, J; Oliveira RN; Costa JP; Junior ALG; Sousa DP; Freitas RM; Allegretti SM; Pinto PLS. 2014. Phytol, a Diterpene Alcohol from Chlorophyll, as a Drug Against Neglected Tropical Disease *Schistosomiasis mansoni*. 10.1371/journal.pntd.0002617. PMID:PMC3879229.

Mutawie H. H. and El-Naggar S. M. M., 2013. The protective effect of *Sargassum crassifolia* against Nimbecidine –induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in Wistar rats. Life Science Journal 2013;10(4). Faculty of Applied Sciences, Umm AlQura University, Makkah, KSA

Naryaningsih A., 2005. Keefektifan *Bacillus cereus* (Frankland and Frankland) ATCC 11778 (Bakteri Gram Positif) dan *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) ATCC 27853 (Bakteri Gram Negatif) Sebagai Bioakumulator Kadmium. Thesis. Universitas Diponegoro, Semarang.

Noverita, Fitria D., Sinaga E., 2009. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri jamur endofit dari daun dan rimpang *Zingiber officinale* Val. Fakultas Biologi Universitas Nasional. Jakarta Selatan.

Nurhayati, 2008. Reaksi Katalis Oksidasi. UI Press. Jakarta.

Nuria, Maulita Cut; Faizatun A.; Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar *Jatropha curcas L* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*. Vol 5. No. 2; Hal 26-37. Fakultas Farmasi. Universitas Wahid Hasyim. Semarang.

- Philips, 2013. Philips Innovation Service. Technical Note 2.
- Raman, V; La, S; Saradhi, P; Rao, N; Krishna, NV; Sudhakar; Radhakrishnan. 2012. Antibacterial, Antioxidant Activity and GC-MS Analysis of *Eupatorium odoratum*. ISSN. 0974-2441. Vol 5. Suppl2. India.
- Rao, CV; Newmark, HL; Reddy, BS. 1998. Chemopreventive Effect of Squalene on Colon Cancer. Journal. Carcinogenesis vol. 19 no. 2 pp. 287-290. New York.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, diterjemahkan oleh Padmawinata. Penerbit : ITB. Bandung. Hal. 191-213.
- Santos N. C., Figueira-Coelho J., Martins-Silva J. And Saldanha C., 2003. Multidisciplinary Utilization of Dimethyl Sulfoxide; Pharmacological, Celluler and Molecular Aspects. Biochemical Pharmacology 65 (2003) 1035-1041. Faculdade de Medicina de Lisboa. Instituto de Bioquimica/ Instituto de Medicina Molecular. Lisboa: Portugal.
- Sastrohamidjojo, H., 2007. Kimia Minyak Atsiri, FMIPA. UGM: Jogjakarta
- Setiabudy, R. Dan V.H.S. Gan. 2005. Pengantar Antimikroba dalam Farmakologi dan Terapi. Edisi keempat. Unirversitas Indonesia, Jakarta.
- Slade, Philip E. 1998. Handbook of Fiber Finish Technology. ISBN. 0-8247-0049-1. Marcel Dekker. New York.
- Sulistijo dan Szeifoul, 2006. Pengaruh Pergantian Air Laut Terhadap Perkembangan Zigot *Sargassum polycystum*. Oseanologi dan Limnologi di Indonesia 2006 No. 41 : 15 – 38. ISSN 0125 – 9830.
- Tjandra O., Rusliati. T. R., dan Zulhipri, 2008. Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambutan Rapih (*Nephelium lappaceum*). Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara. Fakultas MIPA Universitas Negeri Jakarta.
- Tri A. S. dan Asnani A. , 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut Dan Metode Ekstraksi. Agointek. Volume 6, No. 1. Fakultas Pertanian Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto.
- Yulinar, Husain D. R., Abdullah A., 2013. Bioaktivitas minyak atsiri rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* k. Schum terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas aeruginosa*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Hasanuddin
- Yusuf S. B., Tjahjaningsih W. dan Sianita N., 2012. Pengaruh ekstrak alga coklat (*Sargassum sp.*) Terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Journal of

Marine and Coastal Science, 1(1), 53 – 60. Fakultas Perikanan dan Kelautan - Universitas Airlangga Kampus C Mulyorejo – Surabaya

Zailanie K dan Kartikaningsih H. 2013. Study On The Composition Of Dietary Fiber On The Parts Of Thallus Brown Algae (*Sargassum duplicatum*) and Fatty Acid On The Parts Of The Thallus Brown Algae (*Sargassum duplicatum*). Proceeding Internasional Conference. The 4 Green Technology Faculty of Science and Technology Islamic of University State Maulana Malik Ibrahim Malang: Faculty of Fisheries and Marine Sciences of Brawijaya University, Malang.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**Lampiran 1. Pembuatan media MHA (Muller Hinton Agar)**

Komposisi	Jumlah (gr)
Casein Hydrolisate	17,5
Starch	1,5
Agar	13
Infusion from meat	2,0

Sumber : Label media MHA

Cara pembuatan :

- Dihitung

$$\text{Jumlah MHA yang dibutuhkan} = \frac{34 \times \text{jumlah cawan} \times \text{isi per cawan}}{1000}$$

- Yang harus dibuat adalah 6 cawan dan dilihat dari metode masing-masing cawan berisi 20 ml

$$\text{Jumlah MHA yang dibutuhkan} = \frac{34 \times 4 \times 20}{1000}$$

$$= 2,72 \text{ gram MHA yang diperlukan untuk 4 cawan.}$$

**Lampiran 2. Perhitungan DMSO 10% dan Konsentrasi 5000 ppm, 10000 ppm, dan 15000 ppm**

- DMSO 10% = 10 ml DMSO murni dilarutkan dalam 100 ml aquades.

$$= \frac{10}{100} \times 100 \%$$

$$= 10\%$$

- Pembuatan 15000 ppm

$$15000 \text{ ppm} = 15000 \text{ ml} / 1000000 \text{ ml}$$

$$= 0,015 \text{ ml} / 1 \text{ ml}$$

Total stok ekstrak 0,015 ml dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%

- Pembuatan 10000 ppm

$$10000 \text{ ppm} = 10000 \text{ ml} / 1000000 \text{ ml}$$

$$= 0,010 \text{ ml} / 1 \text{ ml}$$

Total stok ekstrak 0,010 ml dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%

- Pembuatan 5000 ppm

$$5000 \text{ ppm} = 5000 \text{ ml} / 1000 \text{ ml}$$

$$= 0,005 \text{ ml} / 1 \text{ ml}$$

Total stok ekstrak 0,005 ml dilarutkan dalam 1 ml DMSO 10%

### Lampiran 3. Pembuatan Kultur Bakteri

Diambil satu ose koloni bakteri uji (*Bacillus cereus*)

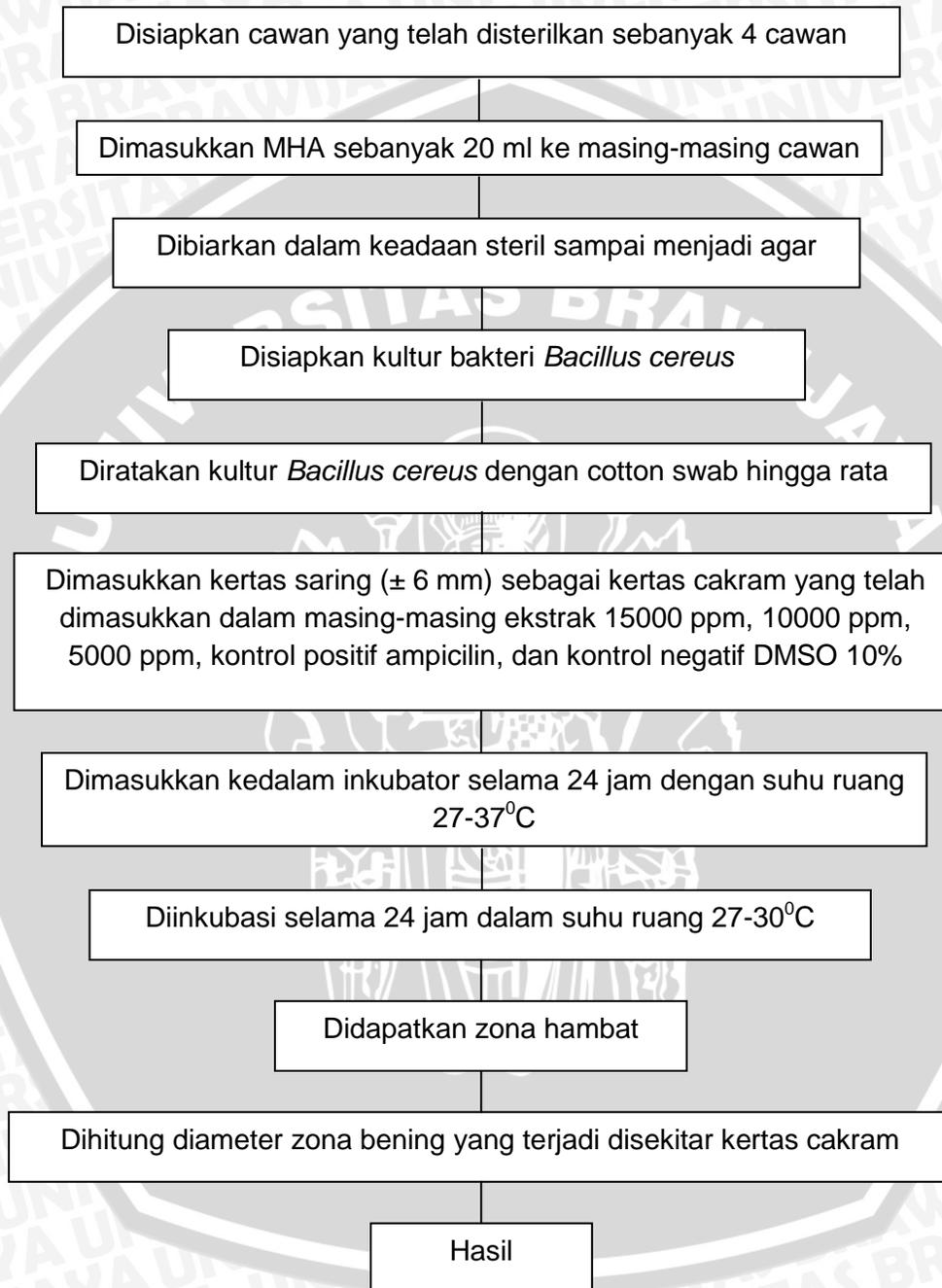
Diinokulasikan dalam larutan NaCl fisiologis 0,9 % sebanyak 5 ml

Dilakukan perbandingan tingkat kekeruhan larutan Nafis 0,9% yang sudah terdapat bakteri kultur dengan McFarland 0,5 (Kepadatan bakteri  $1,5 \times 10^8$ )

Dimasukkan *cottonswab* kedalam campuran bakteri dan Nafis 0,9 %

Ditiriskan dengan cara ujung *cottonswab* ditekan dan diputar pada dinding dalam tabung untuk membuang kelebihan cairan

Dioleskan *cottonswab* pada permukaan media MHA sebanyak dua kali secara vertikal dan horizontal agar pertumbuhan bakteri merata

**Lampiran 4. Skema Kerja Uji Cakram Metode Difusi (Kirby bauer)**

**Lampiran 5. Rancangan Acak Lengkap dari Data Hasil Zona Hambat *Sargassum duplicatum* terhadap *Bacillus cereus***

Perlakuan	Ulangan			
	1	2	3	4
5000 ppm	1	1.5	0.8	0.6
10000 ppm	1.7	2.7	1.6	1.1
15000 ppm	2.2	3	1.9	1.8
Kontrol positif	4.9	7.1	4.7	5.9
Kontrol negatif	0	0	0	0

Perlakuan	Mean
5000 ppm	0.975
10000 ppm	1.775
15000 ppm	2.225
Kontrol positif	5.65
Kontrol negatif	0

*Annova Single Factor*

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
5000 ppm	4	3.9	0.975	0.149166667
10000 ppm	4	7.1	1.775	0.449166667
15000 ppm	4	8.9	2.225	0.295833333
Kontrol Positif	4	22.6	5.65	1.21
Kontrol negatif	4	0	0	0

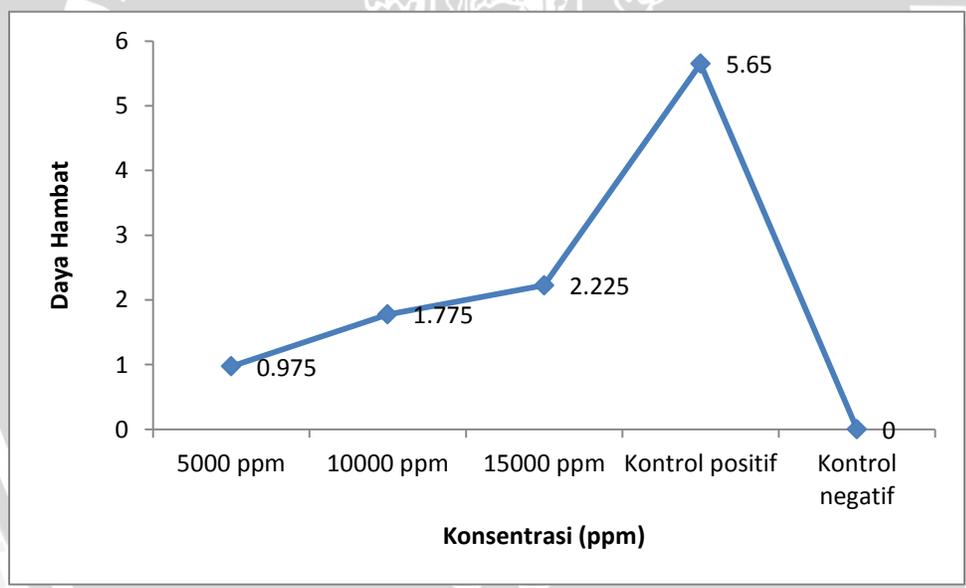
Anova :

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	73.585	4	18.39625	43.71386139	4.271E-08	3.055568276
Within Groups	6.3125	15	0.420833			
Total	79.8975	19				

Uji BNT

Perlakuan	Rata-rata	Notasi atas BNT 5%	Notasi atas BNT 1%
5000 ppm	0.975	ab	ab
10000 ppm	1.775	bc	bc
15000 ppm	2.225	cd	bcd
Kontrol positif	5.65	e	e
Kontrol negatif	0	a	a
BNT 5%	0.98		
BNT 1%	1.35		

Estimated Marginal Means of Daya Hambat



## Lampiran 6. Hasil Uji Fitokimia

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG**  
**LABORATORIUM KIMIA**  
Jl. Raya Tlogomas No. 246 Telp. 0341-464318 Psw. 152 Malang 65144

**LAPORAN ANALISIS**

No. Surat : 250 /LK-B/VIII/2015

Contoh disampaikan oleh pelanggan dengan keterangan sebagai berikut:

Pelanggan : **Moh. Husen Jailani**  
105080300111015  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan/Manajemen Sumber  
Daya Perikanan  
Universitas Brawijaya Malang

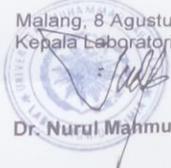
Jenis Contoh : Ekstrak *Sargassum duplicatum*

Tgl. Penerimaan : 20 Juni 2015

Analisis/Uji yang diminta : Fenolat, flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, dan saponin

Metode Analisis : - Folin C Spektrofotometri (Fenolat)  
-  $\text{AlCl}_3$  - Spektrofotometri (Flavonoid)  
-  $\text{FeCl}_3$  - Spektrofotometri (Tanin)  
- BCG - Spektrofotometri (Alkaloid)  
- Kromatografi kolom - Spektrofotometri (Terpenoid)  
- Spektrofotometri (Saponin)

Hasil Analisis : Terlampir

Malang, 8 Agustus 2015  
Kepala Laboratorium  
  
Dr. Nurul Mahmudati, Dra, MKes/

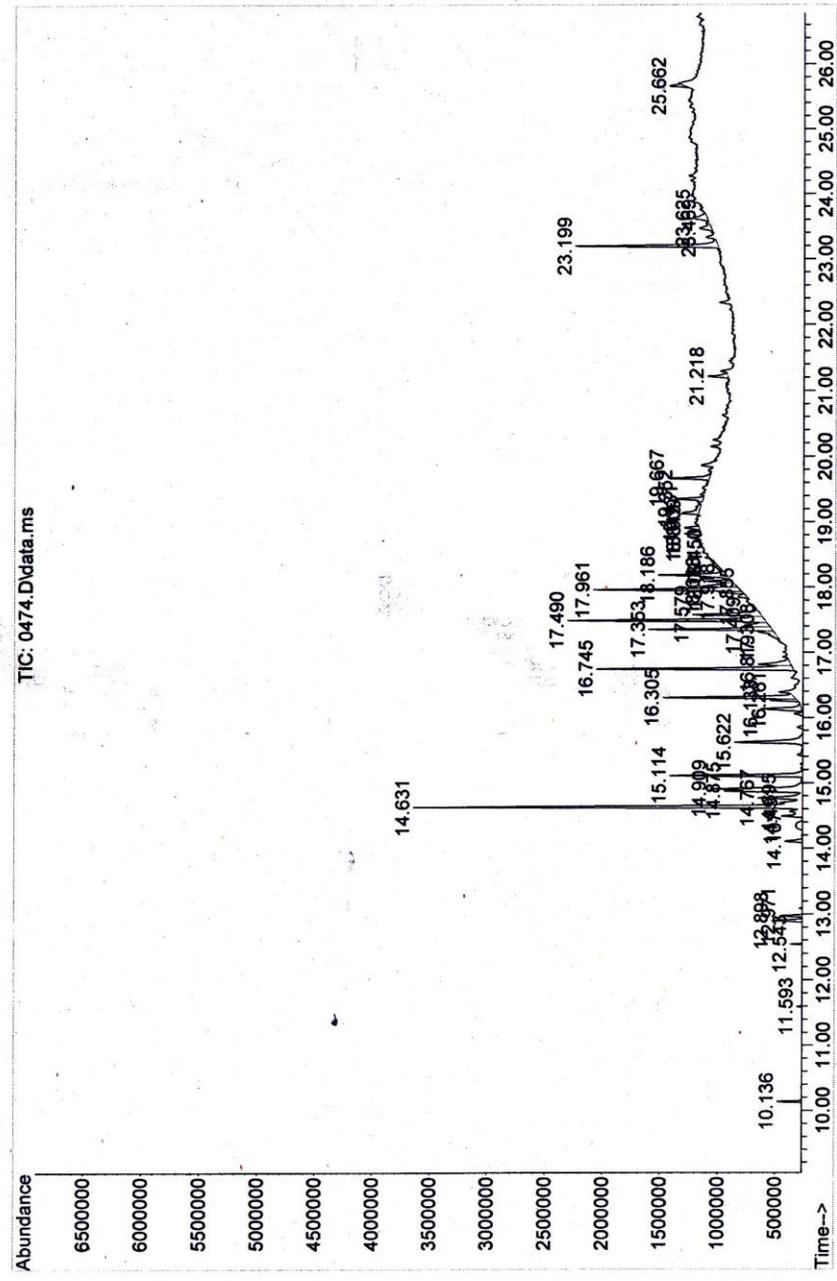
Lampiran Surat No. 27 /LK-B/VIII/2015

Hasil Analisis Kimia Sampel Ekstrak

Parameter	Unit	Hasil Ekstrak	
		1	2
Total Fenolat	ppm	66798.942	69958.848
Total Flavonoid	ppm	34712.302	34557.613
Total Tanin	ppm	14760.461	15479.892
Total Alkaloid	ppm	9259.259	9670.782
Total Terpenoid	ppm	1430.725	1494.608
Total Saponin	ppm	639.825	670.433

Lampiran 7. Hasil GC-MS

File : D:\Data\2015\0474.D  
Operator : Che2  
Acquired : 29 May 2015 7:12 using AcqMethod NARKOBA.M  
Instrument : GCMSD5975C  
Sample Name: Sampel rumpun laut coklat Sargassum Duplicatu  
Misc Info : Moh. Husen Jailani - UB.  
Vial Number: 1



Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\  
 Data File : 0474.D  
 Acq On : 29 May 2015 7:12  
 Operator : Che2  
 Sample : Sampel rumput laut coklat Sargassum Duplicatu  
 Misc : Moh. Husen Jailani - UB.  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	10.136	1.70	C:\Database\W9N11.L Cycloheptasiloxane, tetradecamethy 1- TETRADECAMETHYLCYCLOHEPTASILOXANE \$\$ Cycloheptasiloxane, tetradecame thyl- (CAS) Cycloheptasiloxane, tetradecamethy 1-	777328 777331 777330	000107-50-6 000107-50-6 000107-50-6	93 91 91
2	11.595	1.28	C:\Database\W9N11.L 1-Hexadecene (CAS) \$\$ Cetene \$\$ 1- Cetene \$\$ n-Hexadec-1-ene Pentafluoropropionic acid, 4-hexad ecyl ester Cetene \$\$ 1-Hexadecene \$\$ .alpha.- Hexadecene \$\$ n-Hexadec-1-ene \$\$ 1 -Cetene	251389 657480 251386	000629-73-2 998657-48-0 000629-73-2	86 86 80
3	12.545	0.84	C:\Database\W9N11.L Hexadecamethylcyclooctasiloxane \$\$ Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl - (CAS) Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl- \$\$ Hexadecamethyl-cyclooctasioxan 6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	798043 798044 597130	000556-68-3 000556-68-3 998597-13-0	58 53 50
4	12.900	1.89	C:\Database\W9N11.L 1-Heptadecene \$\$ Hexahydroaplotaxe ne \$\$ Heptadec-1-ene \$\$ NSC 77132 3-Heptadecene, (Z)- \$\$ (3E)-3-Hept adecene # 8-Heptadecene \$\$ (8E)-8-Heptadecen e #	291417 291426 291429	006765-39-5 998291-42-6 002579-04-6	99 99 95
5	12.969	1.49	C:\Database\W9N11.L Heptadecane \$\$ n-Heptadecane \$\$ No rmal-heptadecane Heptadecane \$\$ n-Heptadecane \$\$ No rmal-heptadecane Heptadecane (CAS) \$\$ n-Heptadecane \$\$ Normal-heptadecane \$\$ n - hept adecane	297244 297246 297251	000629-78-7 000629-78-7 000629-78-7	96 96 95
6	14.107	1.81	C:\Database\W9N11.L 1-Octadecene (CAS) \$\$ .alpha.-Octa decene \$\$ Octadecylene .alpha.- 1-Octadecene (CAS) \$\$ .alpha.-Octa decene \$\$ Octadecylene .alpha.- 1-Octadecene \$\$ .alpha.-Octadecene \$\$ Octadecylene .alpha.- \$\$ Neod ene 18	331389 331390 331386	000112-88-9 000112-88-9 000112-88-9	99 99 96
7	14.491	1.29	C:\Database\W9N11.L OCTADECAMETHYLCYCLONONASILOXANE \$\$ Cyclononasiloxane, octadecamethyl - (CAS) Cyclononasiloxane, octadecamethyl- \$\$ Octadecamethyl-cyclononasiloxan	808243 808242	000556-71-8 000556-71-8	91 91

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\  
 Data File : 0474.D  
 Acq On : 29 May 2015 7:12  
 Operator : Che2  
 Sample : Sampel rumput laut coklat Sargassum Duplicatu  
 Misc : Moh. Husen Jailani - UB.  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			OCTADECAMETHYLCYCLONONASILOXANE	808247	000556-71-8	91
			Cyclononasiloxane, octadecamethyl - (CAS)			
8	14.634	14.17	C:\Database\W9N11.L Neophytadiene	405540	000504-96-1	99
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	455610	000150-86-7	94
			(CAS) \$\$\$ Phytol (CAS)			
			Neophytadiene	405539	000504-96-1	94
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
9	14.697	1.12	C:\Database\W9N11.L 2-Hexadecene, 2,6,10,14-tetramethyl-	411107	056554-34-8	86
			1- (CAS) \$\$\$ PHYTENE			
			Cyclohexane, 1,2,3-trimethyl-	32027	001678-97-3	58
			,2,3-Trimethylcyclohexane			
			2-Hexadecene, 2,6,10,14-tetramethyl-	411106	056554-34-8	50
			1- \$\$\$ 2,6,10,14-Tetramethyl-2-hexadecene			
10	14.765	2.26	C:\Database\W9N11.L 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	377144	000502-69-2	87
			(CAS) \$\$\$ 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone			
			2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	377141	000502-69-2	86
			\$\$\$ Hexahydrofarnesyl acetone			
			2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	377140	000502-69-2	76
			\$\$\$ Hexahydrofarnesyl acetone			
11	14.874	3.05	C:\Database\W9N11.L Phenol, 4-(1-methyl-1-phenylethyl)	216543	000599-64-4	87
			4-Chloro-2,6-diisopropylphenol	214910	998214-91-0	83
			1,3,4,4-Tetramethyl-1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazole	216364	998216-36-4	80
12	14.908	3.85	C:\Database\W9N11.L Neophytadiene	405539	000504-96-1	91
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
			Neophytadiene	405540	000504-96-1	87
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
			1,3,4,4-Tetramethyl-1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazole	216364	998216-36-4	80
13	15.114	4.64	C:\Database\W9N11.L 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	455610	000150-86-7	90
			(CAS) \$\$\$ Phytol (CAS)			
			Neophytadiene	405539	000504-96-1	89
			,3-METHYLENE-1-HEXADECENE			
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	455618	000150-86-7	81
			(CAS) \$\$\$ Phytol (CAS)			
14	15.624	3.43	C:\Database\W9N11.L Hexadecanoic acid, methyl ester	382580	000112-39-0	99
			Palmitic acid, methyl ester			

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\  
 Data File : 0474.D  
 Acq On : 29 May 2015 7:12  
 Operator : Che2  
 Sample : Sampel rumput laut coklat Sargassum Duplicatu  
 Misc : Moh. Husen Jailani - UB.  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0

Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			Hexadecanoic acid, methyl ester (C 382602 AS) \$Methyl palmitate	000112-39-0	98	
			Hexadecanoic acid, methyl ester \$Palmitic acid, methyl ester	382582	000112-39-0	98
15	16.133	1.86	C:\Database\W9N11.L 2-Pyrazolin-5-ol, 5-trifluoromethyl-1-(3-pyridylcarbonyl)- Isorhamnetin	504568 507056	301321-78-8 000480-19-3	41 38
			4-N-Hexylaniline \$4-Hexylaniline \$p-Hexylaniline \$p-n-Hexylaniline	124138	033228-45-4	38
16	16.259	0.68	C:\Database\W9N11.L 1-Octadecene \$.alpha.-Octadecene \$.alpha.-Neodene 18 1-Octadecene (CAS) \$.alpha.-Octadecene \$.alpha.- decene \$Octadecylene .alpha.- 1-Octadecene (CAS) \$.alpha.-Octadecene \$.alpha.- decene \$Octadecylene .alpha.-	331386 331389 331390	000112-88-9 000112-88-9 000112-88-9	99 98 97
17	16.305	4.62	C:\Database\W9N11.L Hexadecanoic acid, ethyl ester (CA S) \$Ethyl palmitate Hexadecanoic acid, ethyl ester (CA S) \$Ethyl palmitate HEXADECANOIC ACID, ETHYL ESTER \$ETHYL HEXADECANOATE	422320 422312 422307	000628-97-7 000628-97-7 000628-97-7	98 98 98
18	16.745	6.90	C:\Database\W9N11.L Arachidonic acid \$5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, (all-Z)- \$Arachidonate Arachidonic acid \$5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, (all-Z)- \$Arachidonate Ethyl 5,8,11,14-eicosatetraenoate	477344 477346 548387	000506-32-1 000506-32-1 998548-38-7	95 91 91
19	16.820	1.76	C:\Database\W9N11.L 7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester 9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)- cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid \$Icosapentaenoic acid	365011 365466 472207	056554-30-4 000506-44-5 010417-94-4	83 83 81
20	17.306	0.91	C:\Database\W9N11.L 9,17-Octadecadienal, (Z)- \$ (9Z)- 9,17-Octadecadienal # 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS) \$Methyl linoleate 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester \$9,12-Octadecenoic acid, methyl ester	365432 449789 449841	056554-35-9 000112-63-0 002462-85-3	96 96 96

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\  
 Data File : 0474.D  
 Acq On : 29 May 2015 7:12  
 Operator : Che2  
 Sample : Sampel rumput laut coklat Sargassum Duplicatu  
 Misc : Moh. Husen Jailani - UB.  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0  
 Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
21	17.352	3.89	C:\Database\W9N11.L cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester	455298	998455-29-8	99
			9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	455236	000112-62-9	99
			9-Octadecenoic acid, methyl ester	455269	001937-62-8	99
			(E)- 9-Octadecenoic acid, methyl ester			
22	17.409	1.30	C:\Database\W9N11.L 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS)	416380	000112-80-1	93
			Oleic acid 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS)	416378	000112-80-1	93
			Oleic acid 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS)	416369	000112-80-1	93
			(Z)- 9-Octadecenoic acid			
23	17.489	7.05	C:\Database\W9N11.L Phytol 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	455639	000150-86-7	99
			Phytol 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	455613	000150-86-7	91
			2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-	455611	000150-86-7	91
			Phytol (CAS)			
24	17.581	2.84	C:\Database\W9N11.L Methyl stearate 9-Octadecanoic acid, methyl ester	460906	000112-61-8	98
			9-Octadecanoic acid, methyl ester (CAS)	460858	000112-61-8	95
			9-Octadecanoic acid, methyl ester (CAS)	460885	000112-61-8	95
			9-Octadecanoic acid, methyl ester (CAS)			
25	17.855	0.42	C:\Database\W9N11.L Oleic Acid 9-Octadecenoic acid (Z)- 9-Octadecenoic acid (E)- 9-Octadecenoic acid	416371	000112-80-1	99
			9-Octadecenoic acid, (E)- 9-Octadecenoic acid	416465	000112-79-8	99
			9-Octadecenoic acid, (E)- 9-Octadecenoic acid	416368	998416-36-8	99
			9-Octadecenoic acid			
26	17.918	0.68	C:\Database\W9N11.L 9,17-Octadecadienal, (Z)- 9,17-Octadecadienal #	365432	056554-35-9	96
			cis-13-Octadecenoic acid	416531	013126-39-1	95
			9-Octadecenoic acid, (E)- 9-Octadecenoic acid	416465	000112-79-8	95
			9-Octadecenoic acid			
27	17.958	5.05	C:\Database\W9N11.L n-Propyl 9-octadecenoate	528602	998528-60-2	89
			9-Octadecenoic acid, methyl ester (E)- (CAS)	455277	001937-62-8	76
			9-Octadecenoic acid, methyl ester (E)- (CAS)	455286	013481-95-3	76
			10-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS)			

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\  
 Data File : 0474.D  
 Acq On : 29 May 2015 7:12  
 Operator : Che2  
 Sample : Sampel rumput laut coklat Sargassum Duplicatu  
 Misc : Moh. Husen Jailani - UB.  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0  
 Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
28	18.015	1.57	C:\Database\W9N11.L Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic acid (Z)- \$\$ .DELTA.9-cis-Oleic acid	416371	000112-80-1	90
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) \$\$	416381	000112-80-1	87
			Oleic acid \$\$ Red oil \$\$ Oelsauere			
			9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ trans	416465	000112-79-8	78
			-.delta.(sup 9)-Octadecenoic acid			
29	18.090	0.97	C:\Database\W9N11.L cis-Vaccenic acid \$\$ 11-Octadecenoic acid, (Z)- \$\$ (Z)-11-Octadecenoic acid	416530	000506-17-2	97
			cis-13-Octadecenoic acid	416531	013126-39-1	96
			9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ trans	416465	000112-79-8	95
			-.delta.(sup 9)-Octadecenoic acid			
30	18.187	2.81	C:\Database\W9N11.L Octadecanoic acid, ethyl ester \$\$ Stearic acid, ethyl ester	498409	000111-61-5	95
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) \$\$	416378	000112-80-1	92
			Oleic acid \$\$ Red oil \$\$ Oelsauere			
			Heptadecanoic acid, 15-methyl-, ethyl ester \$\$ Ethyl 15-methylheptadecanoate #	498329	057274-46-1	92
31	18.450	0.72	C:\Database\W9N11.L 9-OCTADECENOIC ACID \$\$ ELAIDINSAEU RE	416368	998416-36-8	99
			9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ trans	416462	000112-79-8	99
			-.delta.(sup 9)-Octadecenoic acid			
			Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic acid (Z)- \$\$ .DELTA.9-cis-Oleic acid	416369	000112-80-1	99
32	18.817	0.67	C:\Database\W9N11.L 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) \$\$	416378	000112-80-1	98
			Oleic acid \$\$ Red oil \$\$ Oelsauere			
			OCTADEC-9-ENOIC ACID \$\$ 9-OCTADECE NOIC ACID	416377	998416-37-7	97
			Octadec-9-enoic acid \$\$ (9E)-9-Octadecenoic acid #	416376	998416-37-6	97
33	18.908	0.53	C:\Database\W9N11.L 9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ trans	416463	000112-79-8	92
			-.delta.(sup 9)-Octadecenoic acid			
			OCTADEC-9-ENOIC ACID \$\$ 9-OCTADECE NOIC ACID	416374	998416-37-4	92
			OCTADEC-9-ENOIC ACID \$\$ 9-OCTADECE NOIC ACID \$\$ HEPTADECEN-(8)-CARBON SAEURE-(1)	416373	998416-37-3	92
34	19.131	1.09	C:\Database\W9N11.L 6-Octadecenoic acid	416493	998416-49-3	99
			cis-13-Octadecenoic acid	416531	013126-39-1	95
			cis-Vaccenic acid \$\$ 11-Octadecenoic acid, (Z)- \$\$ (Z)-11-Octadecenoic acid	416530	000506-17-2	95
35	19.354	1.05	C:\Database\W9N11.L			

Library Search Report

Data Path : D:\Data\2015\  
 Data File : 0474.D  
 Acq On : 29 May 2015 7:12  
 Operator : Che2  
 Sample : Sampel rumput laut coklat Sargassum Duplicatu  
 Misc : Moh. Husen Jailani - UB.  
 ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Search Libraries: C:\Database\W9N11.L Minimum Quality: 0  
 Unknown Spectrum: Apex  
 Integration Events: ChemStation Integrator - autoint1.e

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
			9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) \$\$	416378	000112-80-1	99
			Oleic acid \$\$ Red oil \$\$ Oelsauere			
			Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic acid	416369	000112-80-1	98
			(Z)- \$\$ .DELTA.9-cis-Oleic acid			
			Octadec-9-enoic acid \$\$ (9E)-9-Oct	416376	998416-37-6	97
			adecenoic acid #			
36	19.669	1.65	C:\Database\W9N11.L			
			OCTADEC-9-ENOIC ACID \$\$ 9-OCTADECE	416377	998416-37-7	97
			NOIC ACID			
			Octadec-9-enoic acid \$\$ (9E)-9-Oct	416376	998416-37-6	97
			adecenoic acid #			
			9-OCTADECENOIC ACID \$\$ ELAIDINSAEU	416368	998416-36-8	96
			RE			
37	21.220	0.80	C:\Database\W9N11.L			
			OCTADEC-9-ENOIC ACID \$\$ 9-OCTADECE	416377	998416-37-7	91
			NOIC ACID			
			Octadec-9-enoic acid \$\$ (9E)-9-Oct	416376	998416-37-6	91
			adecenoic acid #			
			Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic acid	416370	000112-80-1	60
			(Z)- \$\$ .DELTA.9-cis-Oleic acid			
38	23.200	5.14	C:\Database\W9N11.L			
			Squalene	690823	000111-02-4	99
			Squalene	690836	000111-02-4	99
			Squalene	690834	000111-02-4	99
39	23.469	0.76	C:\Database\W9N11.L			
			Fumaric acid, pent-4-en-2-yl tride	619573	998619-57-3	46
			cyl ester			
			Pyridine-3-carboxamide, oxime, N-(	411601	288246-53-7	42
			2-trifluoromethylphenyl)-			
			14.alpha.-Cheilanth-12-enic Methyl	655374	998655-37-4	42
			Ester			
40	23.623	0.96	C:\Database\W9N11.L			
			Hexahydropyridine, 1-methyl-4-[4,5	201121	094427-47-1	53
			-dihydroxyphenyl]-			
			SILIKONFETT	819414	000000-00-0	46
			SILICONE GREASE, SILICONFETT	819405	000000-00-0	46
41	25.660	0.52	C:\Database\W9N11.L			
			(24R,25R)-3.beta.-methoxy-24,26-di	715882	998715-88-2	46
			methyl-5.alpha.cholestane			
			Vitamin E	715759	000059-02-9	42
			.beta.-Tocopherol, O-methyl-	715841	998715-84-1	42

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian



