

**EKSTRAK KASAR TEH *Sargassum cristaefolium*
DENGAN PELARUT BERBEDA TERHADAP MORFOLOGI
Vibrio parahaemolyticus MENGGUNAKAN SCANNING ELECTRON
MICROSCOPY (SEM)**

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

Oleh:

YULI ANITA

NIM. 125080301111005

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2016

**EKSTRAK KASAR TEH *Sargassum cristaefolium*
DENGAN PELARUT BERBEDA TERHADAP MORFOLOGI
Vibrio parahaemolyticus MENGGUNAKAN SCANNING ELECTRON
MICROSCOPY (SEM)**

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

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh:
YULI ANITA
NIM. 12508030111005**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2016

SKRIPSI

EKSTRAK KASAR TEH *Sargassum cristaefolium*
DENGAN PELARUT BERBEDA TERHADAP MORFOLOGI
Vibrio parahaemolyticus MENGGUNAKAN SCANNING ELECTRON
MICROSCOPY (SEM)

Oleh:
YULI ANITA
NIM. 125080301111005

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 10 Juni 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Menyetujui
Dosen Penguji I

Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 22 JUL 2016

Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 19640726 198903 2 004
Tanggal: _____

Dosen Penguji II

Dr. Ir. Happy Nurayam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal: 12 2 JUL 2016

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Yahya, MP
NIP. 19630706 199003 1 005
Tanggal: _____

12 2 JUL 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Widiyeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

12 2 JUL 2016



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil 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 (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang,

Juni 2016

Mahasiswa

Yuli Anita

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas berkah dan rahmat-Nya, penulis bisa menyelesaikan Laporan Skripsi ini. Laporan Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Dalam penyusunan Laporan Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si dan Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan sejak pembuatan usulan skripsi sampai terselesaikannya laporan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP dan Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran dalam penyelesaian laporan skripsi ini.
3. Orang Tua tercinta yaitu Bapak Supriyono dan Ibu Murtini dan adik Roy Johan Wahyudi serta segenap anggota keluarga yang selalu memberi dorongan semangat dan do'a.
4. Teman seperjuangan tim *skripsweet* Mas Pepy, Mas Fajar, Mas Ukin dan Mas Sigit yang telah membantu dengan sepenuh hati, memberi semangat, berbagi informasi dan berjuang bersama dalam suka dan duka, tim Bu Hartati yang dipersatukan dari awal PKM, Sandi, Fina, Eva, Evi, Nina, Fildza, Ais, Lely, Nisa, Wiwid, Syafi, Sun'an, Argo, Adi, Tius dan Iko.
5. Sahabat-sahabatku Devina, Astrid, Iis K, Naning, Ulin dan Yeni.
6. Sahabat-sahabat Wisma Catalonia, Lin Asyiqoh, S.PdI, Fahrún Nisa', S.Si, Fatimatuz Zahro, S.Pd dan Choirus Zakinah (OTW S.Si) yang menghibur disaat jenuh dengan laporan skripsi.
7. Tim asisten Sanitasi Industri Perikanan 2015, Kimia Pangan 2016 dan THP Modern 2016.
8. Segenap keluarga besar THP 2012 tercinta.

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

Malang, Juni 2016

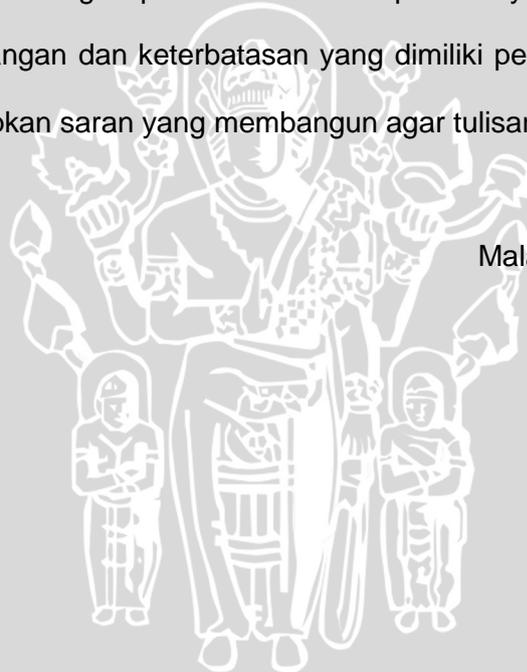
Penulis

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan laporan skripsi yang berjudul ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut berbeda terhadap morfologi *Vibrio parahaemolyticus* menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Tulisan ini menyajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi hasil *Scanning Electron Microscopy* pada *Vibrio parahaemolyticus*, analisa perubahan morfologi *Vibrio parahaemolyticus*, dan analisa senyawa dugaan pada ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut berbeda kepolarannya. Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat

Malang, Juni 2016

Yuli Anita



RINGKASAN

YULI ANITA (125080301111005). Ekstrak Kasar Teh *Sargassum cristaefolium* dengan Pelarut Berbeda terhadap Morfologi *Vibrio parahaemolyticus* Menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si** dan **Dr. Ir. Yahya, MP**).

Sargassum cristaefolium merupakan salah satu spesies algae dari marga sargassum yang tergolong dalam kelas algae coklat mengandung polisakarida berupa alginat, laminaran dan fukoidan. Kandungan metabolit sekunder dalam algae coklat juga sudah mulai diteliti antara lain kandungan steroid, alkaloid, fenol dan vitamin. Beberapa algae coklat telah diteliti aktivitasnya sebagai antibakteri.

Sargassum dapat dibuat sebagai minuman sejenis *slimming tea* yang direkomendasikan bagi seseorang yang memiliki kelebihan berat badan dan ingin mencoba menurunkan berat badannya. Sesuai dengan yang dilakukan oleh masyarakat Cabiya Sumenep, Madura yang memanfaatkan alga coklat *Sargassum cristaefolium* sebagai teh. *Vibrio* merupakan bakteri akuatik yang dapat ditemukan di sungai, kolam dan laut. Salah satu jenis bakteri dari marga *Vibrio* yang hidup di laut dan merupakan patogen yang berbahaya bagi kesehatan manusia adalah *Vibrio parahaemolyticus*. Bakteri ini adalah jenis bakteri yang hidupnya di laut, memiliki daya tahan terhadap salinitas cukup tinggi. Oleh sebab itu bakteri patogen ini dapat mencemari pangan hasil laut. *V. parahaemolyticus* sering ditemukan pada udang mentah, ikan mentah, serta kerang, ikan dan pangan hasil laut lainnya yang kurang sempurna cara memasaknya (Widowati, 2008). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Sentral Universitas Negeri Malang pada bulan Oktober 2015-Januari 2016.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode eksploratif-deskriptif. Penelitian eksploratif juga bersifat deskriptif. Umumnya, penelitian eksploratif bertujuan untuk mendapatkan data dasar, yang diperlukan sebagai dasar penelitian lebih lanjut. Penelitian eksploratif tidak menggunakan hipotesis penelitian. Metode eksploratif-deskriptif pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui morfologi *Vibrio parahaemolyticus* yang terpapar ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*.

Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar teh alga coklat *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut metanol, aseton dan heksan dapat merusak sel *Vibrio parahaemolyticus*.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Kegunaan Penelitian.....	5
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	6
2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Algae coklat (Phaeophyta)	7
2.2 <i>Sargassum cristaefolium</i>	8
2.3 Teh <i>Sargassum cristaefolium</i>	9
2.4 Ekstraksi	9
2.4.1 Pelarut	10
2.4.2 Metanol	11
2.4.3 Aseton	11
2.4.4 Heksan	12
2.5 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	13
2.6 SEM (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)	14
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	18
3.1 Materi Penelitian	18
3.1.1 Bahan Penelitian	18
3.1.2 Alat Penelitian.....	18
3.2 Metode Penelitian	19
3.3 Prosedur Penelitian.....	19
3.3.1 Pembuatan Ekstrak Kasar Teh <i>Sargassum cristaefolium</i>	20
3.3.2 Uji SEM	22
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Ekstrak Kasar Teh <i>Sargassum cristaefolium</i>	25
4.2 Dilusi Tabung.....	27
4.3 Hasil <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM).....	29
4.4 Analisa Perubahan Morfologi Sel Bakteri Menggunakan <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	29
4.5 Pendugaan Senyawa Aktif.....	32

5. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	42



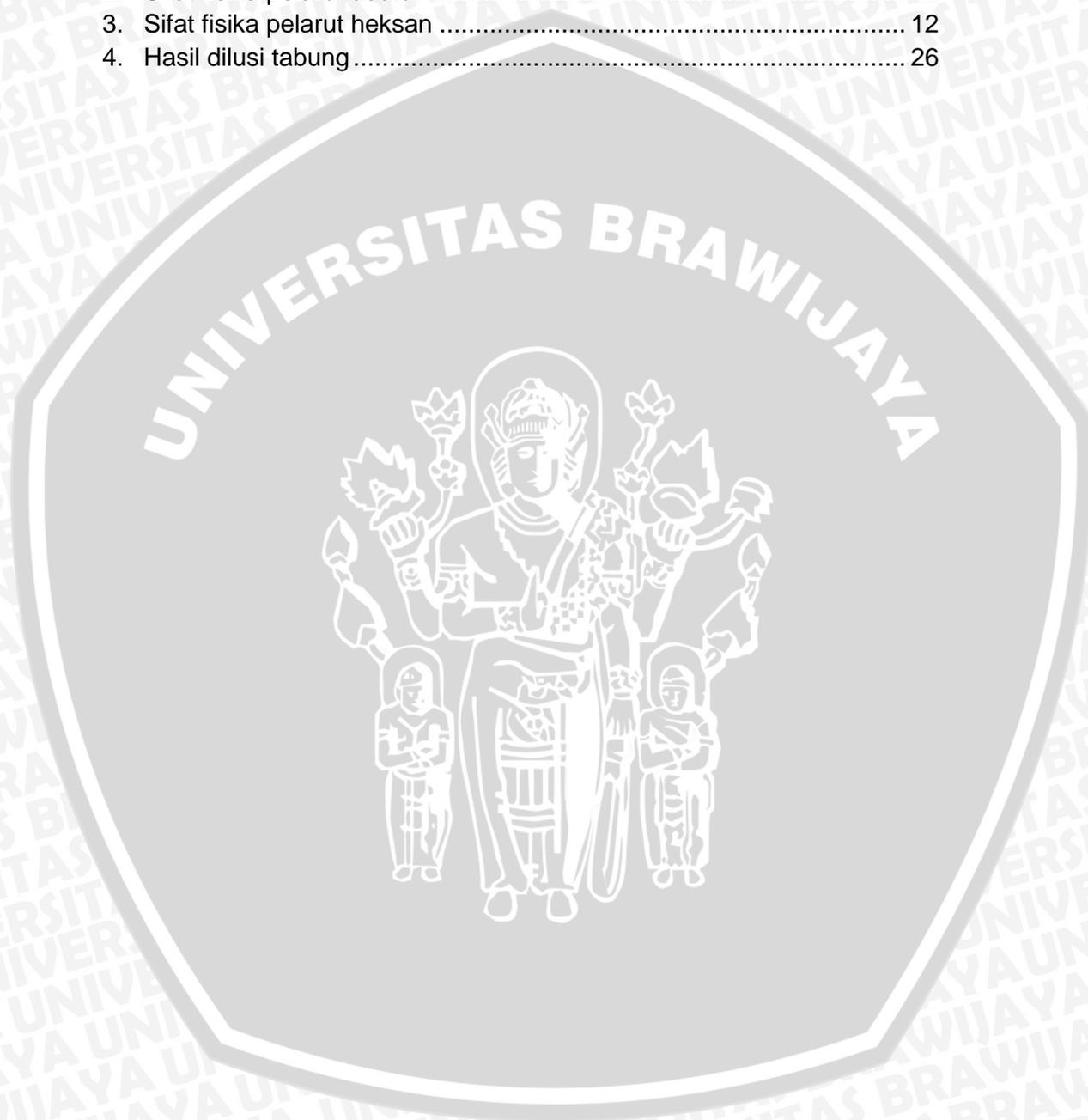
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum cristaefolium</i>	8
2. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	13
3. Prinsip pembentukan citra pada mikroskop elektron	16
4. Diagram skematik fungsi dasar dan kerja SEM	18
5. Pembuatan ekstrak kasar teh <i>Sargassum cristaefolium</i>	21
6. Skema metode dilusi tabung	23
7. Preparasi SEM	24
8. Grafik hasil uji spektrofotometri pada MC Farland	27
9. <i>V. parahaemolyticus</i> tanpa penambahan ekstrak kasar teh <i>S. cristaefolium</i> (kontrol).....	27
10. <i>V. parahaemolyticus</i> dengan penambahan ekstrak kasar teh <i>S. cristaefolium</i> dengan pelarut metanol 10% dan 30%.....	28
11. <i>V. parahaemolyticus</i> dengan penambahan ekstrak kasar teh <i>S. cristaefolium</i> dengan pelarut aseton 10% dan 30%.....	28
12. <i>V. parahaemolyticus</i> dengan penambahan ekstrak kasar teh <i>S. cristaefolium</i> dengan pelarut heksan 10% dan 30%.....	29
13. Spektrum LC <i>S. cristaefolium</i>	32
14. Struktur Kimia 3-asetoxy-4'methoxy-6,8-dimethylflavone	33
15. Spektrum LC <i>S. cristaefolium</i>	33
16. Struktur Kimia <i>Fentanyl</i>	34
17. Spektrum GC Ekstrak kasar teh <i>S. cristaefolium</i> dengan Pelarut heksan	35



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sifat fisika pelarut metanol	11
2. Sifat fisika pelarut aseton	12
3. Sifat fisika pelarut heksan	12
4. Hasil dilusi tabung	26



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Foto alur penelitian	42
2. Perhitungan rendemen ekstrak kasar teh <i>Sargassum critaefolium</i>	44
3. Pembuatan Media APS (<i>Alkaline Peptone Salt</i>) cair	45



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut adalah salah satu hasil laut yang potensial sebagai bahan makanan. Berbagai jenis rumput laut seperti alga merah dan cokelat telah dimanfaatkan. Penyusun utama rumput laut adalah air, karbohidrat dan abu. Karbohidrat dalam rumput laut terutama terdapat dalam bentuk serat makanan yang penting bagi kesehatan karena dapat menurunkan kolesterol, melancarkan pencernaan, serta menghambat penyerapan glukosa (Purnawijayanti, 2009).

Rumput laut merupakan tanaman tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun. Rumput laut dikelompokkan menjadi empat kelas berdasarkan pigmennya yaitu *Rhodophyceae* (alga merah), *Phaeophyceae* (alga coklat), *Chlorophyceae* (alga hijau) dan *Cyanophyceae* (alga hijau-biru). Rumput laut juga dikelompokkan berdasarkan senyawa kimia yang dikandungnya, sehingga dikenal rumput laut penghasil karaginan (karaginofit), agar (agarofit) dan alginat (alginofit). Berdasarkan empat kelas di atas hanya alga coklat dan alga merah yang digunakan sebagai bahan mentah industri kimia. Alga coklat merupakan sumber bagi produksi alginat (alginofit), sedangkan alga merah merupakan sumber produksi karaginan dan agar-agar (Winarno, 1990).

Makro alga atau dikenal sebagai rumput laut telah diidentifikasi sebagai sumber senyawa bioaktif. Bahan berikut telah berhasil diekstrak dari rumput laut yaitu fukosantin, astaxantin, alkaloid polisakarida sulfat dan asam lemak tak jenuh ganda seperti DHA (*docosahexaenoic acid*), EPA (*eicosapentaenoic acid*), ETA (*eicosatrienoic acid*) dan asam stearat. Umumnya makro alga tumbuh di lingkungan air dan telah mempunyai kemampuan untuk menahan berbagai

gangguan dari lingkungannya seperti salinitas air, air pasang yang kuat, variasi intensitas cahaya dan fluktuasi suhu (Jaswir dan Monsur, 2011).

Phaeophyta (alga coklat) adalah alga yang memiliki anggota cukup banyak, yaitu sekitar 1.500 spesies. Hampir semua anggotanya adalah multiseluler dan hidup di laut. Hanya beberapa jenis saja yang hidup diperairan tawar. Pigmen yang paling dominan pada phaeophyta adalah fukosantin atau warna coklat. Struktur tubuh phaeophyta mirip dengan tumbuhan tingkat tinggi karena terdapat struktur yang menyerupai akar, batang dan daun. Perkembangbiakan alga ini dapat terjadi secara aseksual dan seksual. Contoh alga coklat yaitu *Sargassum*, *Fucus* dan *Turbinaria* (Firmansyah *et al.*, 2007).

Sargassum merupakan genus yang sangat besar (mendekati 400 spesies) menyebar di seluruh dunia. *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun. Alga ini tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang. Panjang thallus mencapai 1-3 m. Pada tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang berguna untuk mengapung ke permukaan air agar mendapatkan intensitas cahaya matahari yang cukup (Basmal *et al.*, 2012).

Sargassum cristaefolium merupakan salah satu spesies algae dari marga sargassum yang tergolong dalam kelas algae coklat mengandung polisakarida berupa alginat, laminaran dan fukoidan. Kandungan metabolit sekunder dalam algae coklat juga sudah mulai diteliti antara lain kandungan steroid, alkaloid, fenol dan vitamin (Rahmat, 1999). *Sargassum* sp. memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen (Sastry dan Reo, 1994).

Sargassum sp. dapat dibuat sebagai minuman sejenis *slimming tea* yang direkomendasikan bagi seseorang yang memiliki kelebihan berat badan dan ingin mencoba menurunkan berat badannya. Sesuai dengan yang dilakukan oleh masyarakat Cabiya Sumenep, Madura yang memanfaatkan alga coklat

Sargassum cristaefolium sebagai teh (Septina, 2014). Teh ini kemudian diekstrak menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya.

Senyawa polar biasanya akan lebih baik diekstraksi dengan pelarut golongan polar seperti metanol. (Harborne, 1984). Alga coklat *C. barbata*, *C. crinite*, *C. stricta*, *C. compressa*, *S. vulgare*, *D. membranacea*, *C. verticillatus*, *H. filicina* yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol mengandung flavonoid (Alghazeer *et al.*, 2013). Aseton merupakan pelarut organik yang mudah menguap. Pelarut ini dipilih dengan mempertimbangkan kemampuan mengekstraksi senyawa polar dan non polar (Day dan Underwood, 2002). Alga coklat *Sargassum wightii* yang diekstraksi dengan aseton menunjukkan adanya metabolit sekunder yaitu alkaloid (Bibiana *et al.*, 2012). Heksan merupakan pelarut non polar yang dapat mengekstraksi senyawa non polar. Heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat (Munawaroh dan Handayani, 2010). Alga coklat *Sargassum myriocystum* J. G. Agardh, *Turbinaria ornata* (Turner) J. G. Agardh, *Turbinaria decurrens* Bory yang diekstraksi dengan pelarut heksan mengandung terpenoid (Sumarsono *et al.*, 2015).

Ekstraksi menggunakan pelarut berbeda mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan. Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Sudarmadji *et al.*, 1989). Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol (polar), aseton (semi polar) dan heksan (nonpolar). Ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* kemudian diujikan pada *Vibrio parahaemolyticus*.

Vibrio merupakan bakteri akuatik yang dapat ditemukan di sungai, kolam dan laut. Salah satu jenis bakteri dari marga *Vibrio* yang hidup di laut dan merupakan

patogen yang berbahaya bagi kesehatan manusia adalah *Vibrio parahaemolyticus*. Bakteri ini adalah jenis bakteri yang hidupnya di laut, memiliki daya tahan terhadap salinitas cukup tinggi. Oleh sebab itu bakteri patogen ini dapat mencemari pangan hasil laut. *V. parahaemolyticus* sering ditemukan pada udang mentah, ikan mentah, serta kerang, ikan dan pangan hasil laut lainnya yang kurang sempurna cara memasaknya (Widowati, 2008). *Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan penyakit gastrointestinal (Zulkifli *et al.*, 2009).

Bakteri gram negatif umumnya lebih resisten terhadap antibiotik dibandingkan dengan bakteri gram positif karena membran bagian luar menghalangi masuknya obat-obatan, berbanding terbalik dengan bakteri gram positif. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks (Campbell *et al.*, 2003). Kebocoran sel dapat disebabkan karena rusaknya ikatan hidrofobik komponen penyusun membran sel seperti protein, fosfolipid serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofobik. Hal ini berakibat meningkatnya permeabilitas membran sel sehingga memungkinkan masuknya senyawa-senyawa antibakteri dalam sel dan keluarnya substansi sel seperti protein dan asam nukleat yang berakibat pada kematian sel (Parhusip *et al.*, 2005). Untuk mengetahui kerusakan sel *Vibrio parahaemolyticus* oleh ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dilakukan pengamatan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*).

SEM adalah salah satu jenis mikroskop elektron yang menggunakan berkas elektron untuk menggambar profil permukaan benda. Prinsip kerja SEM adalah menembakkan berkas elektron berenergi tinggi ke permukaan benda. Permukaan benda yang dikenai berkas akan memantulkan kembali berkas tersebut atau menghasilkan elektron sekunder ke segala arah (Abdullah dan Khairurrijal, 2009). SEM sangat cocok digunakan dalam situasi yang

mebutuhkan pengamatan permukaan kasar dengan pembesaran berkisar 20 kali sampai 500.000 kali (Anggraeni, 2008).

Walaupun akhir-akhir ini penelitian tentang antibakteri dari bahan alami terhadap bakteri patogen telah banyak dilakukan, namun masih belum ada penelitian mengenai kerusakan sel pada bakteri patogen yang terpapar ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Oleh karena itu dibutuhkan penelitian untuk membuktikan kerusakan sel pada bakteri patogen yaitu *Vibrio parahaemolyticus* yang terpapar ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana perubahan sel *Vibrio parahaemolyticus* yang terpapar ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut yang berbeda kepolarannya menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perubahan sel *Vibrio parahaemolyticus* yang terpapar ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut yang berbeda kepolarannya menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan para peneliti mengetahui kerusakan sel *Vibrio parahaemolyticus* oleh ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut yang berbeda kepolarannya.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2015-Januari 2016 di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang,
Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri
Malang dan Laboratorium Sentral Universitas Negeri Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat (Phaeophyta)

Phaeophyta merupakan ganggang laut yang memiliki jenis pigmen dominan karoten yaitu fukosantin. Fukosantin memberi warna coklat sehingga menutupi pigmen klorofil a, klorofil c dan santofil. Sebagian besar ganggang coklat adalah multiseluler dengan bentuk berupa talus. Dapat mencapai 50 m. dinding selnya ada yang mengandung pektin dan algin. Habitatnya di laut yaitu sekitar pantai atau daerah pasang surut. Ada yang mengapung dan ada yang melekat pada karang atau batuan. Ganggang coklat diperkirakan sekitar 1.000 spesies contohnya adalah *Sargassum*, *Laminaria*, *Turbinaria*, *Fucus vesiculosus* (hidup mengapung) dan *Macrocystis* (Aryulina *et al.*, 2004).

Alga coklat kebanyakan multiseluler dan merupakan bagian dari populasi rumput laut di lingkungan laut beriklim sedang dan dingin. Phaeophyta memiliki klorofil a dan b serta karotenoid fukosantin. Alga ini menyimpan kalorinya sebagai minyak dan polisakarida lamarin. Dalam bentuk kelp raksasa, panjangnya bisa mencapai lebih dari 50 m. pola reproduksinya dicirikan oleh pergiliran generasi (Fried dan Hademenos, 2011).

Rumput laut jenis alga coklat yang tumbuh di permukaan laut dan yang tembus cahaya matahari. Pada dasarnya alga coklat ini tidak memiliki akar, batang, dan daun, serta mengandung banyak senyawa kimia seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral, dan juga senyawa bioaktif lainnya. Alga merupakan salah satu jenis rumput laut yang berpigmen coklat sehingga disebut dengan alga coklat. Pemanfaatan alga coklat sangat penting dalam berbagai bidang industri. Tumbuhan ini biasa tumbuh di perairan hangat, sedang, dan dingin. Ukuran dan bentuknya tergantung pada lingkungan hidup masing-masing (Kosman, 2011).

2.2 *Sargassum cristaefolium*

Sargassum cristaefolium memiliki penampakan yang tidak menarik, bau amis dan mudah busuk sehingga selama ini belum banyak dimanfaatkan. Selain itu, juga karena kebanyakan dilakukan penelitian *S. cristaefolium* mengenai alginat karena *Sargassum* sp. merupakan sumber alginat (Permatasari, 2014). *Sargassum* sp. memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen (Sastry dan Rao, 1994).

S. cristaefolium telah banyak digunakan sebagai *food additive* dan sebagai makanan. *S. cristaefolium* didistribusikan secara luas di sepanjang pantai Cina Selatan. Namun sedikit informasi tersedia mengenai penggunaannya dibandingkan dengan aktivitas biologis dari spesies sargassum lainnya seperti *Sargassum stenophyllum*, *Sargassum pallidum*, dan *Sargassum vulgare*. *Sargassum duplicatum*, *Sargassum binderi*, dan *Sargassum fulvellum* baru-baru ini mempunyai aktivitas *anti-inflammatory* (Jaswir *et al.*, 2014). *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Sargassum cristaefolium* (Google, 2016)

2.3 Teh *Sargassum Cristaefolium*

Teh adalah minuman yang memberikan rasa segar, dapat memulihkan kesehatan badan dan terbukti tidak menimbulkan dampak negatif. Khasiat ini karena pada teh mempunyai kandungan senyawa kimia diantaranya fenol, golongan bukan fenol, senyawa aromatis dan enzim (Towaha, 2013). Teh merupakan minuman yang sudah dikenal di Indonesia dan di dunia. Minuman berwarna coklat ini mempunyai aroma yang harum serta rasanya yang khas. Di samping itu, ada banyak zat yang memiliki banyak manfaat yang sangat berguna bagi kesehatan tubuh seperti polifenol, theofilin, flavonoid, tanin, vitamin C dan E, katekin, serta sejumlah mineral seperti Zn dan Mg (Misra *et al.*, 2008).

Menurut Puspitasari (2014), selama ini *Sargassum* hanya dapat digunakan sebagai makanan ternak dan bahan pembuatan pupuk sehingga menjadikan pemanfaatan produk ini sangat kurang. Pemanfaatan lain *Sargassum cristaefolium* bisa dengan dikeringkan, seperti halnya masyarakat Cabiya yang memanfaatkan *Sargassum cristaefolium* dengan membuat teh.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen aktif yang terkandung dalam suatu bahan menggunakan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya (Yuliani dan Satuhu, 2012). Komponen bioaktif dapat diperoleh dengan ekstraksi menggunakan pelarut. Pada prinsipnya ekstraksi menggunakan pelarut dilakukan dengan cara mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat dari residu bahan yang diekstrak. Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi misalnya polaritas. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Sudarmadji *et al.*, 1989).

Metode ekstraksi yang digunakan diduga mempengaruhi sifat fisikokimia dari ekstrak. Ekstraksi dapat dilakukan satu tahap ekstraksi maupun bertingkat.

Pada ekstraksi satu tahap hanya satu pelarut untuk ekstraksi, sedang pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut (Septiana dan Asnani, 2012).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Metode maserasi adalah metode ekstraksi yang paling klasik dengan teknik perendaman terhadap bahan. Sampel yang telah dihaluskan direndam dalam pelarut organik selama beberapa waktu kemudian disaring sehingga menghasilkan filtrat. Proses maserasi dapat dilakukan dengan dan tanpa pemanasan, dengan pengocokan maupun ultrasonik (Ibrahim dan Sitorus, 2013).

2.4.1 Pelarut

Untuk mendapatkan ekstraksi yang menyeluruh dan mendapatkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas farmakologi maka pemilihan pelarut untuk mengekstraksi merupakan faktor yang sangat penting. Pelarut ideal yang sering digunakan adalah alkohol atau campurannya dengan air karena merupakan pelarut pengestraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid (Wijesekera, 1991).

Jenis pelarut pengestraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti *et al.*, 2014).

2.4.2 Metanol

Proses maserasi menggunakan metanol akan mengakibatkan metanol masuk kedalam sel sampel rumput laut yang mengandung zat aktif. Perbedaan konsentrasi antara senyawa aktif dalam rumput laut dan metanol mengakibatkan zat aktif yang ada didalam rumput laut baik itu senyawa polar maupun non polar akan didesak keluar dan larut dalam metanol. Hal ini dapat terjadi karena metanol memiliki kemampuan untuk mengikat senyawa polar maupun non polar (Rohmat *et al.*, 2014).

Metanol adalah zat cair tidak berwarna, berbau seperti alkohol biasa, sangat beracun, mudah menguap dan mudah terbakar. Metanol dibuat dalam dunia industri dengan cara mereaksikan gas CO dan gas hidrogen dengan bantuan katalis ZnO dan Cr₂O₃. Metanol digunakan sebagai pelarut, zat antibeku pada otomotif karena titik bekunya rendah. Campuran antara metanol dengan etanol ditambah dengan zat warna biru akan menghasilkan spiritus yang digunakan sebagai bahan bakar (Salirawati *et al.*, 2007). Metanol digunakan sebagai pelarut polar dalam ekstraksi karena metanol mampu melarutkan unsur-unsur bioaktif yang bersifat polar pada tanaman herba medisinalis (Santosa, 1995). Sifat fisik pelarut metanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat fisik pelarut metanol

Sifat	Nilai
Massa molekul	32,04 g/mol
Titik didih	64,7 °C
Titik leleh	-97,7 °C
Densitas	0,791 g/mL

Sumber: Ibrahim dan Sitorus, 2013

2.4.3 Aseton

Keton yang paling sederhana adalah aseton. Aseton memiliki panjang tiga karbon. Aseton mempunyai ciri yang berbeda dari propanal, yaitu aldehida berkarbon tiga (aseton dan propanal adalah isomer struktural). Sehingga variasi dalam lokasi gugus fungsional di sepanjang kerangka karbon merupakan sumber utama keragaman molekuler (Campbell *et al.*, 2002)

Ekstraksi dapat dilakukan dengan menggunakan larutan alkohol atau larutan asam. Pelarut alkohol yaitu aseton merupakan pelarut organik yang bersifat semipolar yang memiliki kemampuan untuk memisahkan fraksi gula larut air dan lemak tanpa melarutkan proteinnya (Karnila *et al.*, 2011). Sifat fisik pelarut aseton dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat fisik pelarut aseton

Sifat	Nilai
Massa molekul	58,08 g/mol
Titik didih	56,3 °C
Titik leleh	-94,7 °C

Sumber: Ibrahim dan Sitorus, 2013

2.4.4 Heksan

Heksan adalah hidrokarbon dengan rumus kimia C_6H_{14} yang merupakan sebuah alkana dengan enam atom karbon. Heksan adalah isomer yang tidak bercabang (n-heksana). Heksan berbentuk cairan tidak berwarna pada suhu kamar dengan titik didih antara 50°C dan 70°C dengan bau mirip bensin. Heksan banyak digunakan karena murah, relatif aman, sebagian besar tidak reaktif dan mudah menguap (pelarut nonpolar) (Day dan Underwood, 2002).

Munawaroh dan Handayani (2010) menjelaskan bahwa heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Awalan heks- merujuk pada enam karbon atom yang terdapat pada heksana dan akhiran -ana berasal dari alkana, yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air. Sifat fisika heksan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat fisik pelarut heksan

Sifat	Nilai
Massa molekul	86,18 g/mol
Titik didih	68,7 °C
Titik leleh	-95,4 °C
Densitas	0,659 g/mL

Sumber: Ibrahim dan Sitorus, 2013

2.5 *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus adalah bakteri dalam famili yang sama seperti penyebab kolera. Bakteri ini tinggal di air asin maupun payau dan menyebabkan

penyakit pencernaan pada manusia. Termasuk bakteri halofilik atau organisme yang membutuhkan garam. Kebanyakan orang terinfeksi melalui kerang mentah atau setengah matang. Setidaknya 12 spesies *Vibrio* spp. diklasifikasikan sebagai strain patogen dan menjadi faktor utama untuk penyakit akibat keracunan makanan. *Vibrio parahaemolyticus* menyebabkan sekitar 25% dari total penyakit akibat keracunan makanan dibandingkan dengan spesies *vibrio* lainnya (Zulkifli *et al.*, 2009).

Vibrio parahaemolyticus termasuk bakteri gram negatif yang hidupnya membutuhkan suatu lingkungan dengan suasana asin. Tumbuh subur dalam media yang mengandung 3% NaCl. Dapat tumbuh pada suasana pH antara 5,3-9 (pH optimal pada 7,5-8,5) dan suhu antara 10-42°C (Trihendrokesowo, 1978).

Klasifikasi *Vibrio parahaemolyticus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Spesies	: <i>Vibrio parahaemolyticus</i>



Gambar 2. *Vibrio parahaemolyticus* (FAO, 2011)

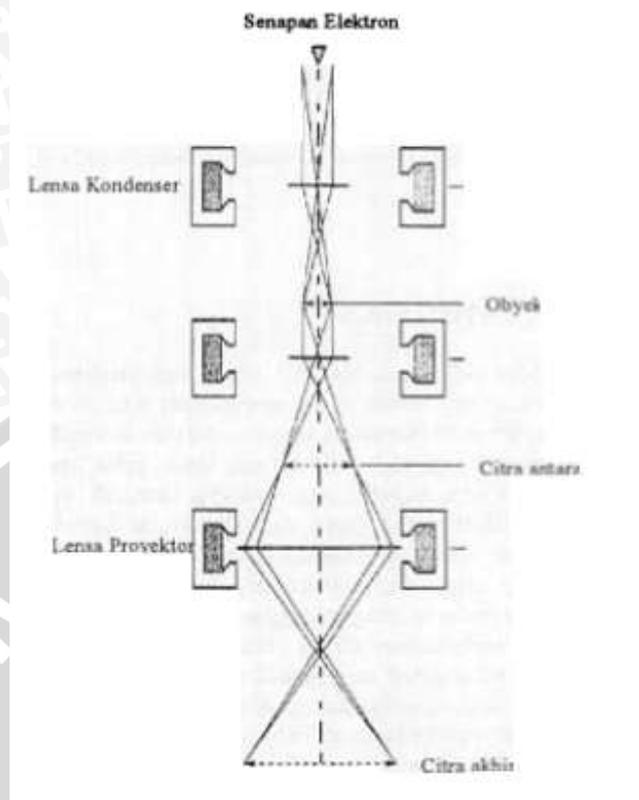
2.6 SEM (Scanning Electron Microscopy)

Scanning Electron Microscopy mampu menghasilkan gambaran dengan perbesaran yang kuat. SEM mampu menghasilkan berbagai variasi sinyal elektron

yang berguna dalam mempelajari sifat-sifat morfologi, fisik, kimiawi dari spesimen (Hariono, 2009). Cara kerja dari SEM adalah sinar dari lampu dipancarkan pada lensa kondensor, sebelum masuk pada lensa kondensor ada pengatur dari pancaran sinar elektron yang ditembakkan. Sinar yang melewati lensa kondensor diteruskan lensa objektif yang dapat diatur maju mundurnya. Sinar yang melewati lensa objektif diteruskan pada spesimen yang diatur miring pada pencekamnya, spesimen ini disinari oleh deteksi x-ray yang menghasilkan sebuah gambar yang diteruskan pada layar monitor (Respati, 2008).

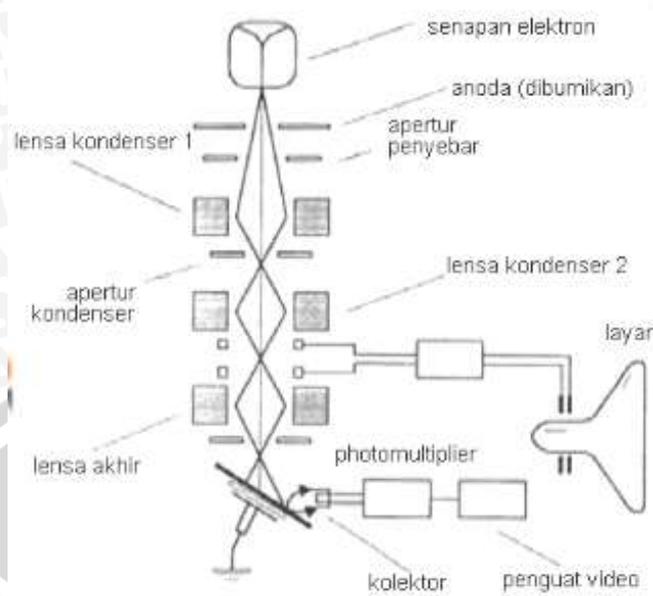
SEM adalah salah satu jenis mikroskop elektron yang menggunakan berkas elektron untuk menggambar profil permukaan benda. Ada satu arah dimana berkas dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Detektor di dalam SEM mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Arah tersebut memberi informasi profil permukaan benda seperti seberapa landai dan kemana arah kemiringan. Pada saat pengamatan lokasi permukaan benda yang ditembak dengan berkas elektron discan ke seluruh area daerah pengamatan. Kita dapat membatasi lokasi pengamatan dengan melakukan *zoom in* dan *zoom out*. Berdasarkan arah pantulan berkas pada berbagai titik pengamatan maka profil permukaan benda dapat dibangun menggunakan program pengolahan gambar yang ada dalam komputer. SEM memiliki resolusi yang lebih tinggi daripada mikroskop optik. Hal ini karena panjang gelombang de Broglie yang dimiliki mikroskop elektron lebih pendek daripada gelombang optik. Makin kecil panjang gelombang yang digunakan maka makin tinggi resolusinya. Panjang gelombang de Broglie mikroskop elektron adalah $\lambda = h/p$, dengan h konstanta Planck dan p adalah momentum elektron. Momentum elektron dapat ditentukan menggunakan energi kinetik melalui persamaan $K = p^2/2m$, dengan K energi kinetik elektron dan m adalah massanya (Abdullah dan Khairurrijal, 2009).

Ardisasmitha (2000), menjelaskan berkas elektron pada SEM difokuskan tajam dan digerakkan sepanjang cuplikan. Berkas elektron tersebut dihamburkan langsung oleh cuplikan membentuk elektron pantulan balik (*back scattered*) atau menghasilkan pancaran elektron sekunder. Pancaran elektron sekunder dan *back scattered* ini dihimpun dan dicacah oleh detektor sekunder atau detektor *back scaller* yang diletakkan dekat cuplikan, kemudian diubah menjadi tegangan dan dikuatkan oleh rangkaian penguat. Formasi citra SEM tidak secara langsung jika dibandingkan dengan TEM (*Transmission Electron Microscopy*). Sapuan pada cuplikan membentuk elemen gambar (*pixel*) pada monitor televisi. Jumlah cacah akan memberikan keterangan dari *pixel*. Citra permukaan cuplikan sebagai hasil sapuan elektron terlihat diperbesar pada layar tabung televisi. Sifat yang menarik pada SEM adalah memberikan tingkat perbesaran yang tinggi dan kedalaman fokus yang besar. Tidak seperti pada TEM, SEM dapat memperlihatkan rincian data permukaan obyek dalam kualitas tiga dimensi. Gambar 5 memperlihatkan bahwa lensa proyektor dan lensa obyektif memperbesar citra obyek. Prinsip pembentukan citra pada mikroskop elektron dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Prinsip pembentukan citra pada mikroskop elektron

Anggraeni (2008) menyatakan sewaktu berkas elektron menumbuk permukaan sampel sejumlah elektron direfleksikan sebagai *back scattered electron* (BSE) dan yang lain membebaskan energi rendah *Secondary Electron* (SE). Emisi radiasi elektromagnetik dari sampel timbul pada panjang gelombang yang bervariasi tapi pada dasarnya panjang gelombang yang lebih menarik untuk digunakan adalah daerah panjang gelombang cahaya tampak (*cathodoluminescence*) dan sinar-X. Elektron-elektron BSE dan SE yang direfleksikan dan dipancarkan sampel dikumpulkan oleh sebuah *scintillator* yang memancarkan sebuah pulsa cahaya pada elektron yang datang. Cahaya yang dipancarkan kemudian diubah menjadi sinyal listrik dan diperbesar oleh photomultiplier. Setelah melalui proses pembesaran sinyal tersebut dikirim ke bagian grid tabung sinar katoda. Diagram skematik fungsi dasar dan kerja SEM dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram skematik fungsi dasar dan kerja SEM



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian terdiri dari bahan penelitian dan alat penelitian. Bahan dan alat pada penelitian ini antara lain:

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan utama, bahan untuk proses pembuatan ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*, bahan untuk metode dilusi tabung dan bahan pengujian SEM. Bahan utama yaitu alga coklat jenis *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari Talango, Kabupaten Sumenep, Madura Jawa Timur dan biakan murni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan kepadatan 10^8 koloni/mL yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Bahan-bahan yang digunakan untuk proses pembuatan teh *S. cristaefolium* adalah rumput laut yang telah direndam dalam larutan kapur dan diangin-anginkan dengan sinar matahari. Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah aluminium foil, kertas saring, kertas label, plastik *wrab*, heksan, aseton, metanol dan kertas label. Bahan-bahan yang digunakan untuk metode *tube dilution* adalah stok murni bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, media pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yaitu APS (*Alkaline Peptone Salt*), Na Fis, akuades. Bahan untuk preparasi SEM adalah *object glass*, *buffer phosphate*, etanol dan glutaraldehid.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi teh *S. cristaefolium*, alat untuk metode dilusi tabung dan alat pengujian SEM untuk mengetahui morfologi bakteri. Alat-alat yang digunakan dalam proses ekstraksi teh *S. cristaefolium* adalah *beaker glass* 1000 ml, gelas ukur

100 ml, spatula, timbangan digital, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *rotary vacuum evaporator*, corong dan botol kaca 100 ml. Alat yang digunakan untuk metode dilusi tabung adalah tabung reaksi, mikropipet, autoklaf, rak tabung reaksi. Alat untuk preparasi SEM adalah pipet tetes, cuvet dan bunsen. Alat pengujian untuk melihat morfologi bakteri adalah SEM FE tipe *inspect S50*.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode eksploratif-deskriptif. Menurut Ritonga (2005), penelitian eksploratif juga bersifat deskriptif. Umumnya, penelitian eksploratif bertujuan untuk mendapatkan data dasar, yang diperlukan sebagai dasar penelitian lebih lanjut. Penelitian eksploratif tidak menggunakan hipotesis penelitian.

Metode deskriptif adalah metode untuk menggambarkan situasi atau kejadian. Dengan demikian peneliti bukan saja memberikan gambaran mengenai fenomena-fenomena, tetapi juga menerangkan hubungannya, membuat prediksi, serta menyimpulkan makna atas persoalan yang dibahas. Data yang disimpulkan bisa berupa kepustakaan yang bersumber dari laporan resmi pemerintah, laporan penelitian lembaga independen atau perguruan tinggi atau individu dan media massa (Sumodiningrat, 2007).

Metode eksploratif-deskriptif pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui morfologi *Vibrio parahaemolyticus* yang terpapar ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*.

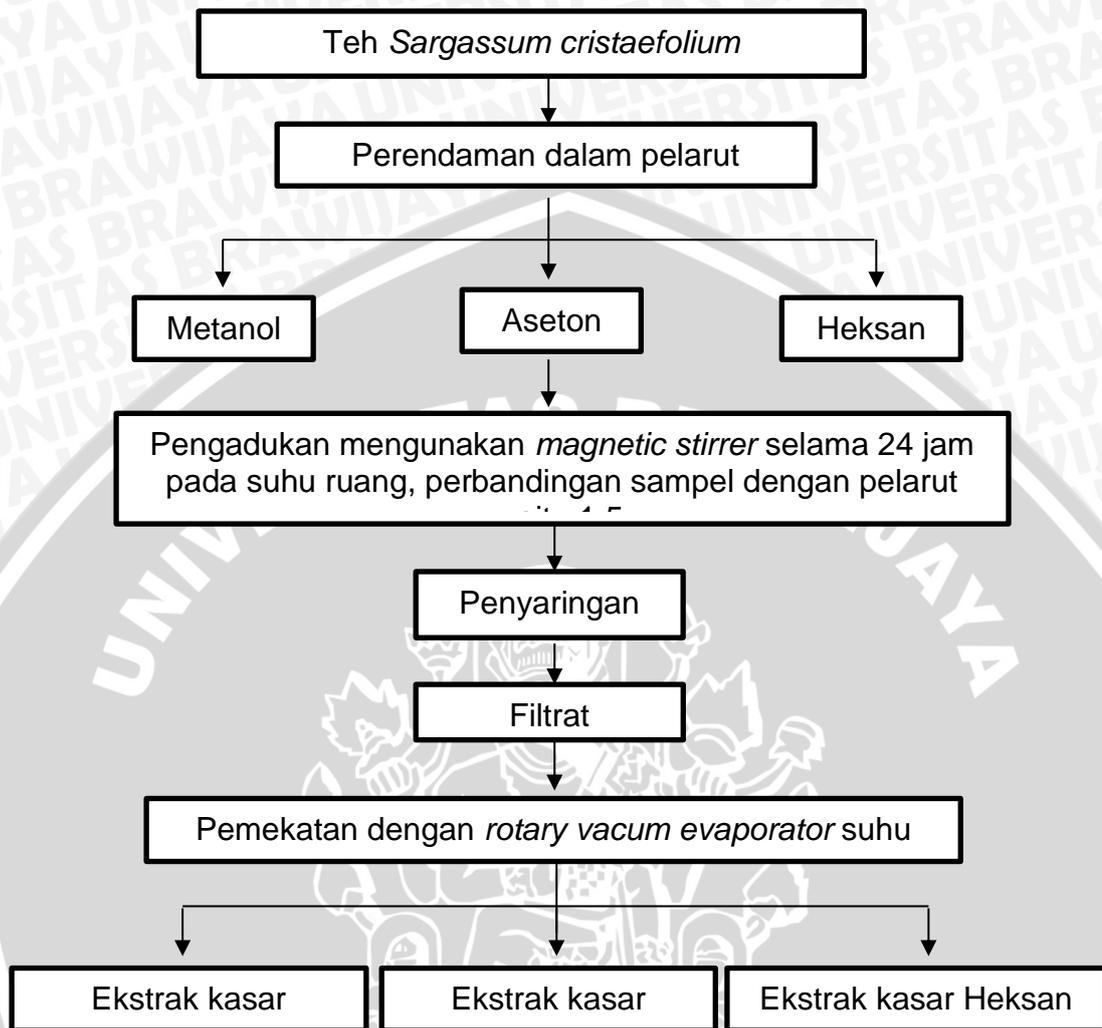
3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dan uji SEM (*Scanning Electron Microscopy*) yang meliputi metode dilusi tabung dan preparasi SEM.

3.3.1 Pembuatan Ekstrak Kasar Teh *Sargassum cristaefolium* (Wardani et al., 2011 yang telah dimodifikasi)

Teh *Sargassum cristaefolium* dilakukan perendaman (maserasi) selama 24 jam pada suhu ruang. Tujuan dari maserasi yaitu untuk menarik senyawa bioaktif yang terdapat pada teh *S. cristaefolium*. Pada proses maserasi sampel dan pelarut yang digunakan yaitu 100 gram Teh *Sargassum cristaefolium* dan 500 mL pelarut (metanol, aseton dan heksan) dengan perbandingan sampel : pelarut yaitu 1:5. Kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring whattman no. 1 untuk memisahkan antara filtrat dan residunya. Filtrat yang diperoleh dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu 40°C. Pembuatan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dapat dilihat pada Gambar 5.





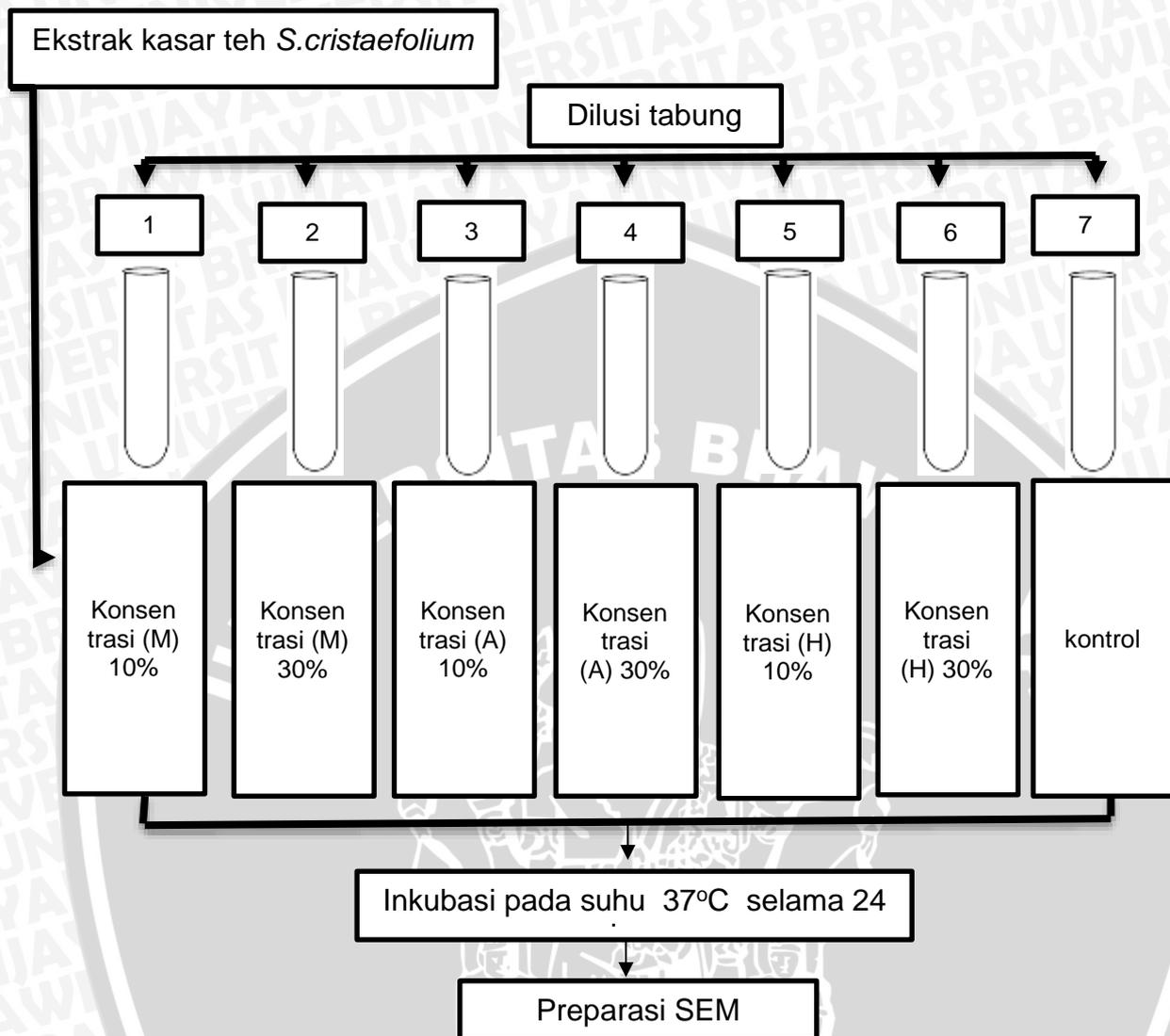
Gambar 5. Pembuatan ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* (Wardani *et al.*, 2011 yang telah dimodifikasi)

3.3.2 Uji SEM

Sebelum preparasi SEM langkah yang dilakukan adalah proses penanaman bakteri dengan metode dilusi tabung. Perlakuan terhadap suspensi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yaitu sebagai berikut:

- Tabung uji 1 diisi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pelarut metanol konsentrasi 10 %.
- Tabung uji 2 diisi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pelarut metanol konsentrasi 30 %.
- Tabung uji 3 diisi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pelarut aseton konsentrasi 10%.
- Tabung uji 4 diisi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pelarut aseton konsentrasi 30 %.
- Tabung uji 5 diisi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pelarut heksan konsentrasi 10%.
- Tabung uji 6 diisi ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pelarut heksan konsentrasi 30 %.
- Tabung uji 7 (kontrol) diisi dengan 1 ml suspensi bakteri tanpa penambahan ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*.

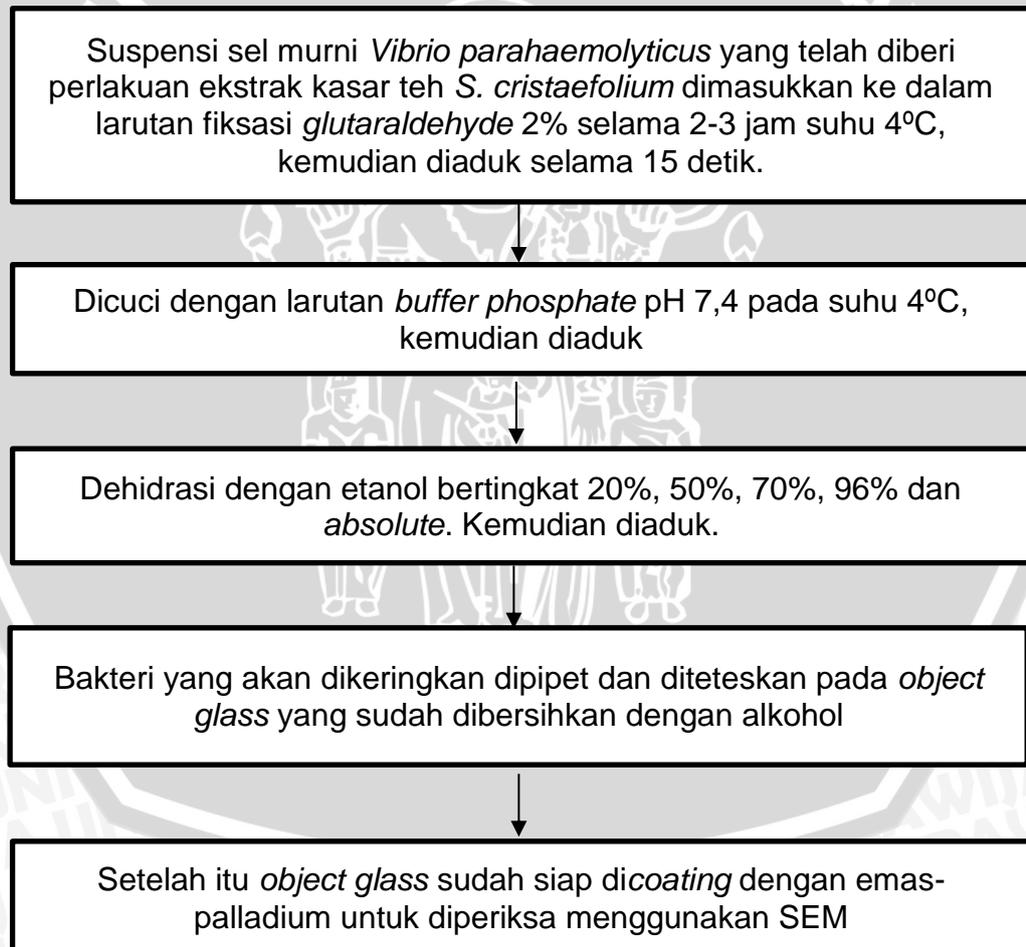
Skema metode dilusi tabung sesuai metode Sari *et al.*, (2010) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Skema metode dilusi tabung (Sari *et al.*, 2010)

Uji SEM dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* merk FE tipe *inspect S50*. Proses preparasi SEM pada *Vibrio parahaemolyticus* dimulai dengan fiksasi menggunakan larutan glutaraldehid 2%. Halim dan Zubaidah (2013), menggunakan larutan fiksasi formaldehid 0,1 M pada proses preparasi SEM isolat bakteri asam laktat. Fiksasi berfungsi mematikan sel tanpa mengubah struktur sel yang akan diamati. Selanjutnya adalah dehidrasi, dehidrasi pada objek yang difiksasi secara kimiawi bertujuan tidak hanya membersihkan kelebihan

larutan fiksatif namun juga membersihkan spesimen dari partikel-partikel lain yang melekat. Larutan untuk dehidrasi antara lain etanol, metanol, isopropil alkohol, aseton dan *metyl cellosolve*. Etanol paling banyak digunakan sebab larutan ini menyebabkan pengerasan jaringan. Proses dehidrasi merupakan cara untuk membuang air dari dalam sel/jaringan, sehingga tidak mengganggu proses pengamatan SEM (Hariono, 2009). Preparasi uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM) pada *Vibrio parahaemolyticus* menggunakan metode Apriningtyaswati *et al.*, (2012) dan Setiawan *et al.*, (2012) yang telah dimodifikasi adalah sebagai berikut:



Gambar 7. Preparasi SEM (Apriningtyaswati *et al.*, 2012 dan Setiawan *et al.*, 2012 yang telah dimodifikasi).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstrak Kasar Teh *Sargassum cristaefolium*

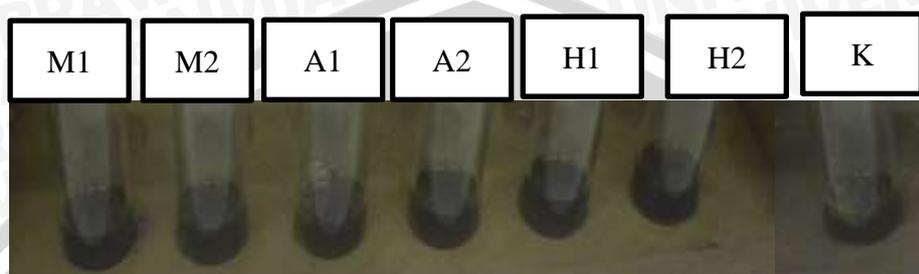
Proses ekstraksi dengan teh *Sargassum cristaefolium* sebanyak 100 gram dan perbandingan pelarut 1:5 menghasilkan rendemen ekstrak kasar sebesar 2,56% dengan pelarut metanol, 2,07% dengan pelarut aseton dan 1,47% dengan pelarut heksan. Ekstraksi pada teh *Sargassum cristaefolium* menggunakan pelarut berbeda menghasilkan rendemen ekstrak kasar yang berbeda pula. Pada penelitian ini digunakan pelarut metanol, aseton dan heksan dalam mengekstrak teh *Sargassum cristaefolium*. Senyawa polar biasanya akan lebih baik diekstraksi dengan pelarut golongan polar seperti metanol. (Harborne, 1984). Aseton merupakan pelarut organik yang mudah menguap. Pelarut ini dipilih dengan mempertimbangkan kemampuan mengekstraksi senyawa polar dan non polar (Day dan Underwood, 2002). Heksan merupakan pelarut non polar yang dapat mengekstraksi senyawa non polar. Heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat (Munawaroh dan Handayani, 2010).

4.2 Dilusi Tabung

Pada pengujian antibakteri dengan metode dilusi tabung, parameter yang digunakan adalah kekeruhan (ada pertumbuhan bakteri) dan kejernihan (tidak ada pertumbuhan bakteri), yang terlihat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Sari *et al.*, 2010). Hasil dilusi tabung menunjukkan bahwa tabung kontrol (tanpa penambahan ekstrak kasar berwarna coklat kekuningan keruh) sedangkan tabung dengan penambahan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut berbeda menghasilkan warna coklat kekuningan bening. Hasil dilusi tabung dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 8.

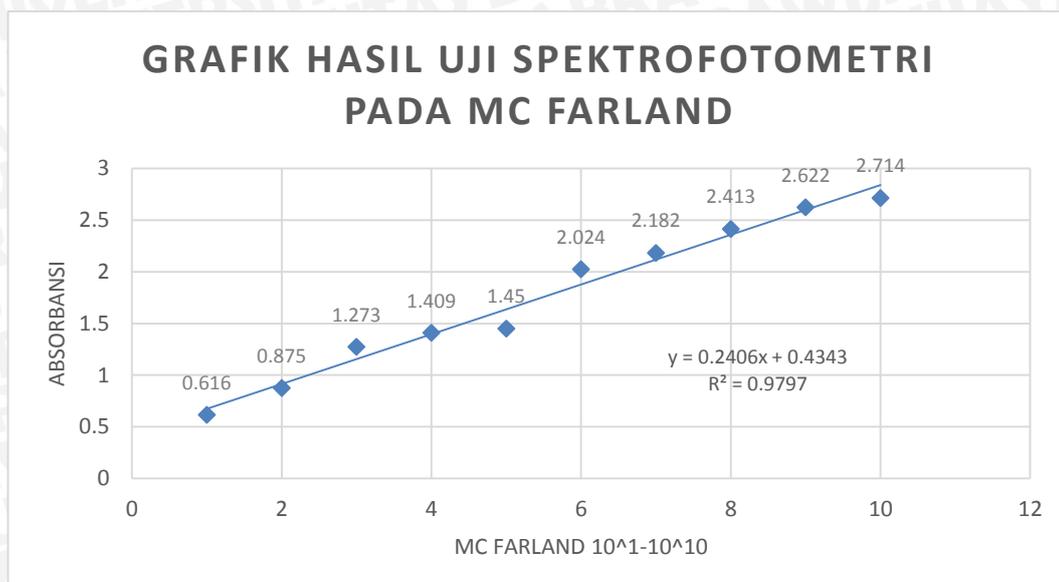
Tabel 5. Hasil dilusi tabung

Ekstrak kasar teh <i>S. cristaefolium</i>	Konsentrasi 10%	Konsentrasi 30%
Pelarut metanol	Coklat kekuningan bening	Coklat kekuningan bening
Pelarut aseton	Coklat kekuningan bening	Coklat kekuningan bening
Pelarut heksan	Coklat kekuningan bening	Coklat kekuningan bening



Gambar 8. Dilusi tabung

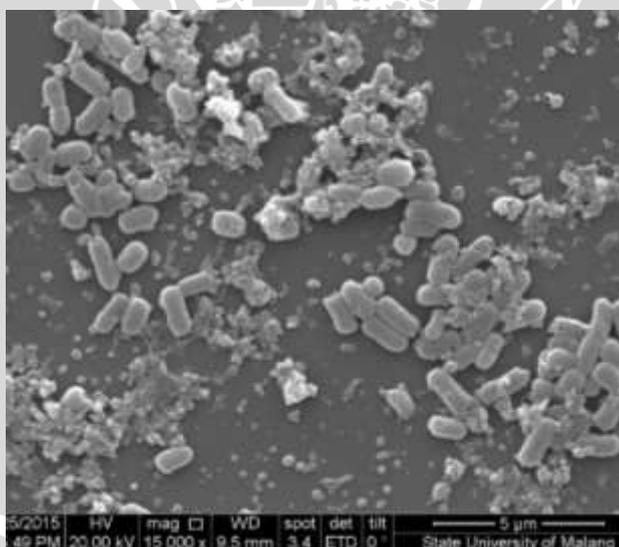
Dari hasil dilusi tabung konsentrasi 10% dan 30% tidak ada perbedaan yang signifikan. Menurut Pratama (2016), ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut metanol mengandung senyawa dugaan yaitu flavonoid. Sesuai penelitian yang dilakukan Alghazeer *et al.*, (2013), bahwa alga coklat *C. barbata*, *C. crinite*, *C. stricta*, *C. compressa*, *S. vulgare*, *D. membranacea*, *C. verticillatus*, *H. filicina* yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol mengandung flavonoid dan alkaloid. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Pristanto (2016), bahwa ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut aseton mengandung senyawa dugaan yaitu alkaloid. Fajar (2016), menyatakan bahwa ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut heksan mengandung senyawa dugaan yaitu terpenoid. Sesuai penelitian yang dilakukan oleh Sumarsono *et al.*, (2015), bahwa alga coklat *Sargassum myriocystum* J. G. Agardh, *Turbinaria ornata* (Turner) J. G. Agardh, *Turbinaria decurrens* Bory yang diekstraksi dengan pelarut heksan mengandung terpenoid. Semua senyawa metabolit sekunder dari ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* tersebut mampu memberikan aktivitas antibakteri pada *Vibrio parahaemolyticus*.



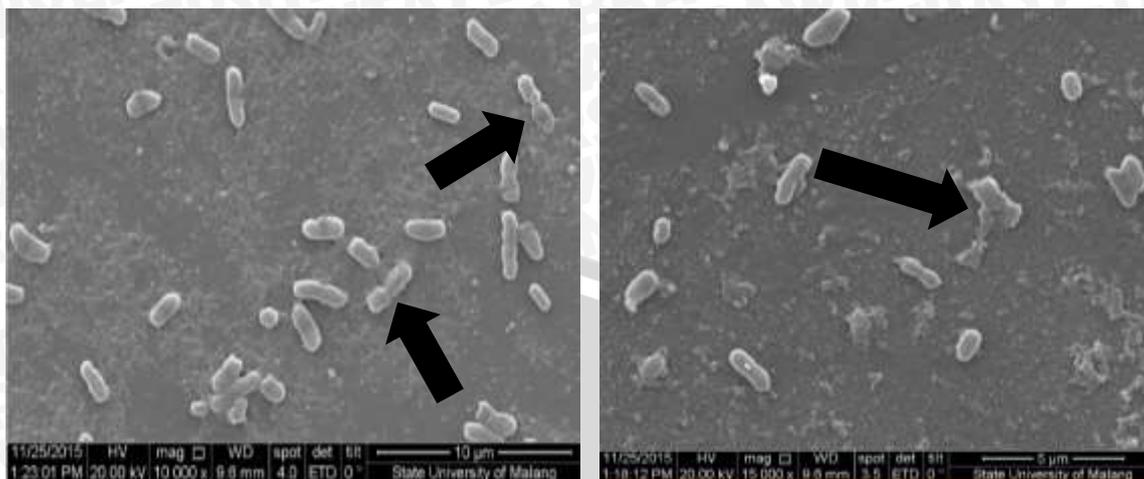
Gambar 9. Grafik hasil uji spektrofotometri pada MC Farland

4.3 Hasil Scanning Electron Microscopy (SEM)

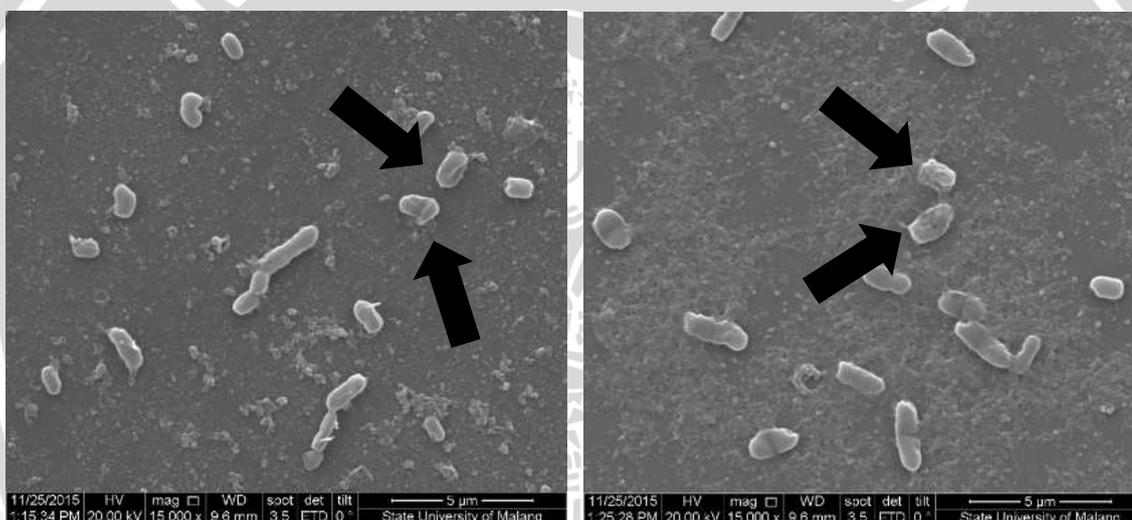
Hasil uji SEM (*Scanning Electron Microscopy*) pada *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada gambar 10, 11, 12 dan 13.



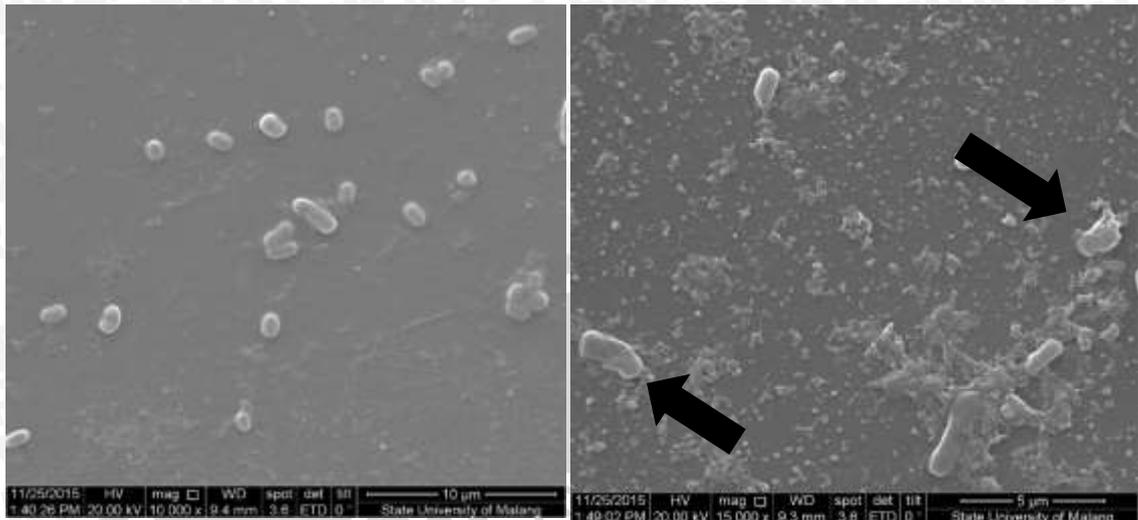
Gambar 10. *Vibrio parahaemolyticus* tanpa penambahan ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* (kontrol)



Gambar 11. *V. parahaemolyticus* dengan penambahan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut metanol konsentrasi 10% dan 30%



Gambar 12. *V. parahaemolyticus* dengan penambahan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut aseton konsentrasi 10% dan 30%



Gambar 13. *V. parahaemolyticus* dengan penambahan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut heksan konsentrasi 10% dan 30%

Keterangan :

 : menunjukkan sel *Vibrio parahaemolyticus* yang rusak

4.4 Analisa Perubahan Morfologi Sel Bakteri Menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Analisa perubahan morfologi sel bakteri oleh ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dilakukan secara mikroskopis menggunakan SEM dengan perbesaran 15000 kali. Hasil pengamatan menunjukkan sel *Vibrio parahaemolyticus* yang tidak diberi perlakuan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* (kontrol) masih utuh berbentuk batang.

Pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* tanpa penambahan ekstrak kasar *S. cristaefolium* dengan SEM terlihat bahwa dinding sel masih bagus (belum mengalami kerusakan). Pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan penambahan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* terlihat bahwa sel *Vibrio parahaemolyticus* mengalami kerusakan.

Membran sel menjaga komposisi internal dari sel dengan cara berfungsi di dalam permeabilitas selektif dan proses transport aktif. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan metabolit penting di dalam sel lolos keluar sel dengan akibat

kematian sel (Dzen *et al.*, 2003). Ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut metanol dapat merusak sel *Vibrio parahaemolyticus*. Hal ini karena diduga ekstrak kasar tersebut mengandung senyawa golongan flavonoid (Pratama, 2016). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.*, 2009). Ditambahkan oleh Retnowati *et al.*, (2011), bahwa senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri.

Ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut aseton dapat merusak sel *Vibrio parahaemolyticus*. Hal ini karena diduga ekstrak kasar tersebut mengandung senyawa golongan alkaloid (Pristanto, 2016). Dewi *et al.*, (2014), menjelaskan bahwa senyawa yang berperan dalam merusak dinding sel antara lain fenol, flavonoid, dan alkaloid. Dinding sel adalah komponen pertahanan sel bakteri. Dinding sel ini mengalami kerusakan sehingga mengakibatkan senyawa metabolit sekunder dapat masuk lebih dalam dan mengganggu organel lain. Ditambahkan oleh Mardiana *et al.*, (2015), alkaloid dapat menghambat sintesis dinding sel serta merusak komponen penyusun peptidoglikan sehingga lapisan dinding selnya tidak terbentuk secara utuh.

Ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut heksan dapat merusak sel *Vibrio parahaemolyticus*. Hal ini karena diduga ekstrak kasar tersebut mengandung senyawa golongan terpenoid (Fajar, 2016). Pada hasil SEM terlihat pada perlakuan ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut heksan konsentrasi 30% adalah yang paling terlihat sedikit jumlah *Vibrio parahaemolyticus*. Sesuai dengan pernyataan Borbon *et al.*, (2012), bahwa pelarut

non polar lebih efisien dalam mengekstrak senyawa antimikroba daripada pelarut polar. Hal ini mungkin ada perbedaan diantara hasil penelitian karena beberapa faktor, yaitu karena jenis metabolit sekunder yang bervariasi, kemungkinan ada perbedaan kemampuan pelarut ekstraksi dalam menarik metabolit sekunder dan perbedaan dalam metode uji. Rohmah (2010), juga mengatakan bahwa pada ekstrak *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut heksan adalah yang paling efektif menghambat *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus* daripada pelarut aseton dan metanol. Hal ini karena metabolit sekunder pada *S. cristaefolium* yang bersifat sebagai antibakteri bersifat non polar. Selain itu kemampuan antibakteri sangat bergantung pada konsentrasi ekstrak.

Mekanisme senyawa golongan terpenoid dalam merusak membran sel yaitu dapat berikatan dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel dan bahkan dapat menimbulkan lisis pada sel. Membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transpor nutrisi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel mikroba mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Purwani *et al.*, 2009).

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Santoso *et al.*, 2012).

4.5 Pendugaan Senyawa Aktif

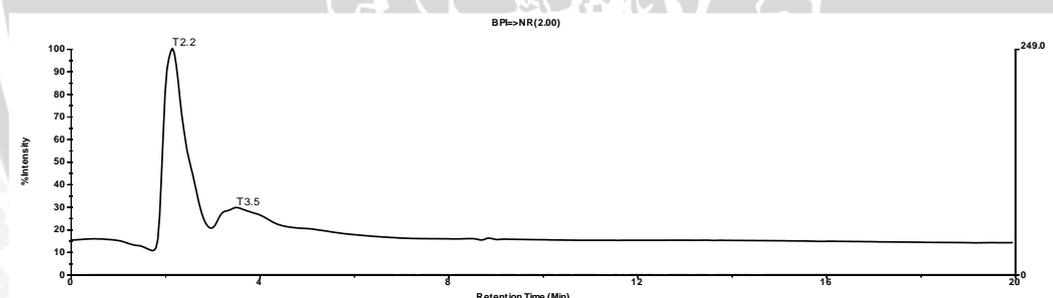
Pendugaan senyawa aktif pada ekstrak kasar teh alga coklat (*Sargassum cristaefolium*) menggunakan LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) dan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*).

4.5.1 LC-MS

Pendugaan senyawa aktif dalam ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut metanol dan aseton uji menggunakan LC-MS untuk menduga struktur senyawa dan berat molekul yang terdapat pada ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut metanol dan aseton.

– Metanol

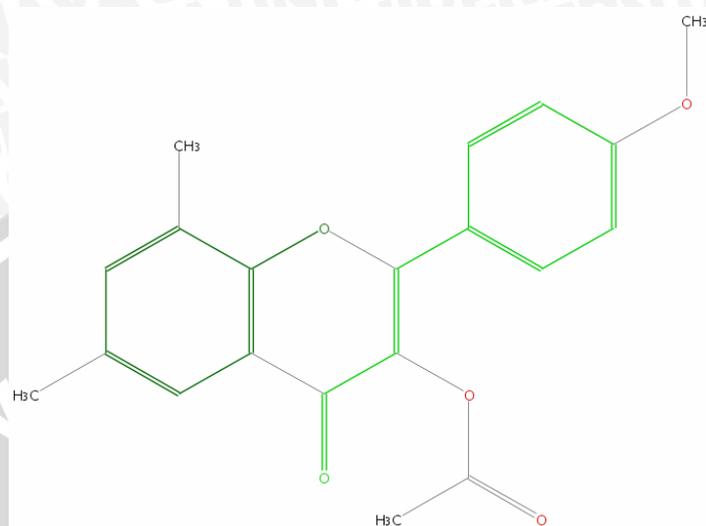
Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pratama (2016), bahwa hasil uji LC-MS menunjukkan terbentuknya 2 puncak waktu retensi yang berbeda. Waktu retensi dengan intensitas yang paling besar terdapat pada puncak pertama yaitu 2,2 menit. Sedangkan puncak kedua memiliki waktu retensi 3,5 menit. Pola spektrum LC-MS dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Spektrum LC *S. cristaefolium*

Hasil analisa dengan LC-MS diduga terdapat senyawa yang dapat merusak sel bakteri dari ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium*. Berdasarkan penelusuran database massa pada RT 2,2 senyawa dengan berat molekul 338 m/z diduga adalah *3-asetoxy-4'methoxy-6,8-dimethylflavone* dan rumus molekulnya $C_{20}H_{18}O_5$. Senyawa ini termasuk dalam golongan flavonoid. Sesuai penelitian yang dilakukan Alghazeer *et al.*, (2013), bahwa alga coklat *C. barbata*,

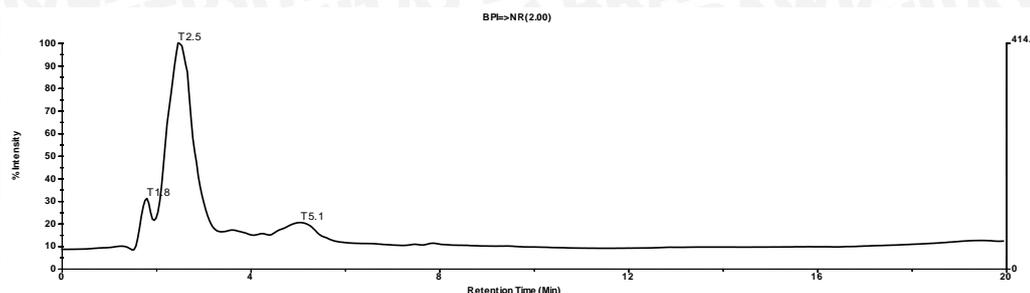
C. crinite, *C. stricta*, *C. compressa*, *S. vulgare*, *D. membranacea*, *C. verticillatus*, *H. filicina* yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol mengandung flavonoid dan alkaloid. Struktur kimia senyawa dugaan dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Struktur Kimia 3-asetoxy-4-methoxy-6,8-dimethylflavone (Pratama, 2016)

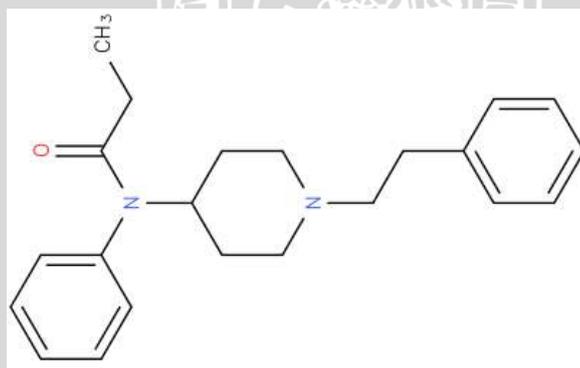
– **Aseton**

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pristanto (2016), bahwa hasil uji LC-MS menunjukkan terbentuknya 3 puncak waktu retensi yang berbeda. Waktu retensi dengan intensitas yang paling besar terdapat pada puncak kedua yaitu 2,5 menit. Sedangkan puncak pertama memiliki waktu retensi 1,8 menit dan puncak ketiga 5,1 menit. Pola spektrum LC-MS dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Spektrum LC *S. cristaefolium*

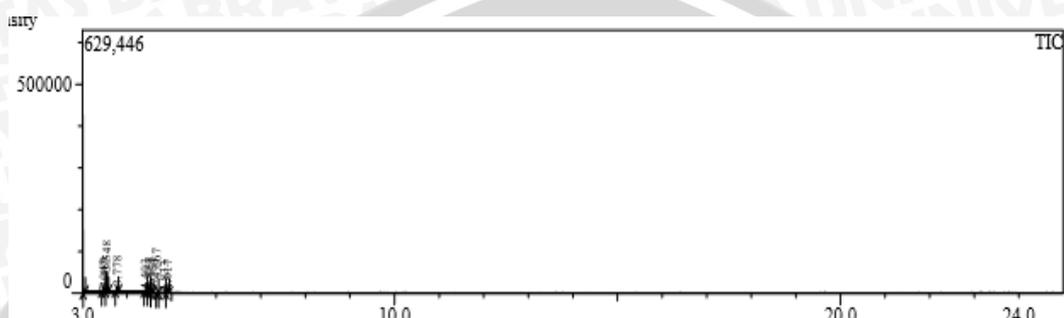
Berdasarkan penelusuran database massa pada RT 2,47 senyawa dengan berat molekul 336 m/z diduga adalah *fentanyl* dengan rumus molekul $C_{22}H_{28}N_2O$. Senyawa ini termasuk dalam golongan alkaloid. Sesuai dengan penelitian Alghazeer *et al.*, (2013), bahwa alga coklat *C. barbata*, *C. crinite*, *C. stricta*, *C. compressa*, *S. vulgare*, *D. membranacea*, *C. verticillatus*, *H. filicina* yang diekstrak menggunakan pelarut metanol mengandung alkaloid. Ditambahkan oleh Yulindar (2013), bahwa teh *S. cristaefolium* yang diekstrak menggunakan pelarut heksan mengandung alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Struktur kimia senyawa dugaan dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Struktur Kimia *Fentanyl* (Pristanto, 2016)

4.5.2 GC-MS

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fajar (2016), bahwa pendugaan senyawa aktif pada ekstrak kasar teh *S.cristaeofolium* dengan pelarut heksan adalah menggunakan uji GC-MS. Adapun hasil dari GC-MS senyawa ekstrak kasar teh heksan *Sargassum cristaeofolium* dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Spektrum GC Ekstrak kasar teh *S. cristaeofolium* dengan Pelarut heksan

Hasil senyawa dugaan yang terkandung pada teh *S. cristaeofolium* yang diekstraksi menggunakan pelarut heksan adalah senyawa golongan terpenoid (dendrolasin, *piperitenone*, dan β -ionone 5,6-epoxide). Sesuai penelitian yang dilakukan oleh Sumarsono *et al.*, (2015), bahwa alga coklat *Sargassum myriocystum* J. G. Agardh, *Turbinaria ornata* (Turner) J. G. Agardh, *Turbinaria decurrens* Bory yang diekstraksi dengan pelarut heksan mengandung terpenoid. Ditambahkan oleh Yulindar (2013), bahwa teh *S. cristaeofolium* yang diekstrak menggunakan pelarut heksan mengandung terpenoid. Septiana dan Asnani (2012), menjelaskan bahwa terpenoid mempunyai bagian polar dan non polar, tetapi bagian non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan bagian non polarnya sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam dalam pelarut non polar.

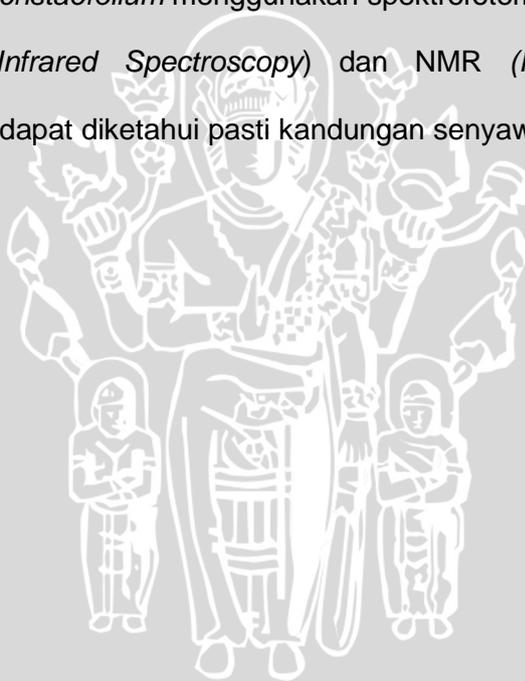
5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan pelarut metanol, aseton dan heksan dapat merusak sel *Vibrio parahaemolyticus*.

5.2 Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya yaitu identifikasi senyawa aktif pada ekstrak murni *S. cristaefolium* menggunakan spektrofotometri UV-VIS, FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) dan NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) sehingga dapat diketahui pasti kandungan senyawa aktif yang dapat merusak sel bakteri.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M dan Khairurijjal. 2009. **Review: Karakterisasi Nanomaterial**. *Jurnal Nanosains & Nanoteknologi* 2(1): 1-9
- Alghazeer, R., F. Whida., E. Abduelrhman dan F. Gammoudi. 2013. **Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya**. *Natural Science* 5(1):7-14
- Anggraeni, N. D. 2008. **Analisa SEM (Scanning Electron Microscopy) dalam Pemantauan Proses Oksidasi Magnetite Menjadi Hematite**. *Seminar Nasional VII*
- Apriningtyaswati, N., I. Barid dan D. E. Indahyani. 2012. **Analisis Efek Ekstrak Polifenol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) Terhadap Ukuran Dan Morfologi *Streptococcus mutans* Menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM)**. Artikel Ilmiah Mahasiswa
- Arifianti, L., R. D. Oktarina dan I. Kusumawati. 2014. **Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth.** *E-Journal Planta Husada* 2(1): 1-4
- Atmadja, W. S. 1992. **Rumput Laut Sebagai Obat**. *Oseana* 17(1):1-8
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2010. **Acuan Sediaan Herbal**. Volume kelima Edisi Pertama. Jakarta
- Basmal, J., B.S.B. Utomo.,Tazwir., Murdinah., T. Wikanta., E. Marraskuranto dan R. Kusumawati. 2012. **Membuat Alginat dari Rumput Laut *Sargassum***. Yogyakarta: Penebar Swadaya
- Bibiana, M. A., K. Nithya., Manikandan., P. Selvamani and S. Latha. 2012. **Antimicrobial Evaluation of The Organic Extracts of *Sargassum Wightii* (Brown Algae) and *Kappaphycus Alwarezii* (Red Algae) Collected from The Coast of Meemesal, Tamilnad**. *IJPCBS* 2(4), 439-446
- Borbon, H., J. M. Herrera., M. Calvo., H. Trimino., R. Soto dan I. Vega. 2012. **Antimicrobial Activity of Most Abundant Marine Macroalgae of the Caribbean Coast of Costa Rica**. *Journal of Asian Scientific Research* 2(5): 292-299
- Campbell, N. A., J. B. Reece dan L. G. Mitchell. 2002. **Biologi Edisi Kelima**. Jakarta: Erlangga
- Day, R. A dan A. L. Underwood. 2002. **Analisis Kimia Kuantitatif**. Jakarta: Erlangga
- Dewi, M. K., E. Ratnasari dan G. Trimulyono. 2015. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri**

***Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu.** *LenteraBio* 3(1): 51–57

Dzen, S. M., Roekistiningsih., S. Santoso., S. Winarsih., Sumarno., S. Islam., Noorhamdani, A.S., S. Murwani dan D. Santosaningsih. 2003. **Bakteriologi Medik.** Malang: Bayumedia Publishing

Fajar, M. 2016. **Uji Antibakteri dan Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Teh Rumpuk Laut Coklat *Sargassum cristaefolium* dengan Pelarut N-heksan.** *Skripsi.* Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Firmansyah, R., A. Mawardi dan U. Riandi. 2007. **Mudah dan Aktif Belajar Biologi.** Bandung: PT. Setia Purna Inves

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2011. **Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood: Interpretative summary and Technical report.** Microbiological Risk Assessment Series No. 16. Rome. 193pp

Fried, G. H dan G. J. Hademenos. 2011. **Schaum Outline Biologi.** Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama

Gusti, K. A. 2011. **Pembuatan Pewarna Bubuk Alami dari Daun Janggolan Kering (*Mesona palustris* BL) (Kajian Jenis Pelarut, Jenis Bahan Pengisi dan Konsentrasinya).** *Skripsi.* Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

Halim, C. N dan E. Zubaidah. 2013. **Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*).** *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 1(1): 129-137

Harborne, J.B. 1984. **Metode Fitokimia.** Bandung: Penerbit ITB

Hariono, B. 2009. **Mikroskop Elektron Pengenalan dan Teknik Preparasi.** Yogyakarta: Kanisius

Ibrahim, S dan M. Sitorus. 2013. **Teknik Laboratorium Kimia Organik.** Yogyakarta: Graha Ilmu

Jaswir, I dan H. A. Monsur. 2011. **Anti-inflammatory compounds of macroalgae origin: A review.** *Journal of Medicinal Plants Research* 5(33): 7146-7154

Jaswir, I., H. A. Monsur., Simsek, S., Amid, A., Alam, Z., bin Salleh, M. N. 2014. **Cytotoxicity and Inhibition of Nitric Oxide In Lipopolysaccharide Induced Mammalian Cell Lines by Aqueous extracts of Brown Seaweed.** *Journal of Oleo Science* 63: 787-794

Kosman, R. 2011. **Pemurnian Natrium Alginat dari *Sargassum duplicatum* J.G. Agardh, *Turbinaria decurrens* (Bory) dan *Turbinaria ornata***

(Turner) J. Argardh Asal Perairan Ternate, Maluku Utara. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 15(1): 30 – 34

Mardiana, A. D., M. Ibrahim dan L. Lisdiana. 2015. **Potensi Filtrat Daun *Sansevieria trifasciata* terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.** *Lentera Bio* 4 (1): 6–12

Misra H, D., B.K. Mehta., M. Mehta., D.C.Soni dan Jain. 2008. **Study of Extraction and HPTLC – UV Method for Estimation of Caffeine in Marketed Tea (*Camellia sinensis*) Granules.** *International Journal of Green Pharmacy*: 47-51

Munawaroh, S dan P. A. Handayani. 2010. **Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana.** *Jurnal Kompetensi Teknik* 2(1): 73-78

Novaczek I dan Athy A. 2001. **Sea Vegetable Recipes For The Pasific Islands.** Fiji Islands : Community Fisheries Training Pacific Series-3B

Nuria, M.C., Faizatun, A. dan Sumantri. 2009. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408.** *Mediagro*. 5(2): 26-37

Parhusip, A. J. N., B. S. L. Jenie., W. P Rahayu dan Yasni. 2005. **Pengaruh Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap Permeabilita dan hidrofobisitas *Bacillus cereus*.** *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 16(1): 24-30

Permatasari, D. 2014. **Studi Kadar *Epigallocatechin Gallate* (EGCG) pada “Teh” Daun Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*).** *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Pratama, K. Y. F. 2016. **Uji Antibakteri dan Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Teh Rumput Laut Coklat *Sargassum cristaefolium* dengan Pelarut Metanol.** *Skripsi*. Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Pristanto, S. D. 2016. **Uji Antibakteri dan Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Teh Rumput Laut Coklat *Sargassum cristaefolium* dengan Pelarut Aseton.** *Skripsi*. Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Purnawijayanti, H.A. 2009. **Mi Sehat: Cara Pembuatan, Resp-resep Olahan, dan Peluang Bisnis.** Yogyakarta: Kanisius

Puspitasari, D. 2014. **Studi Kadar Kuersetin Pada “Teh” Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*.** *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya Malang

Purwani, E., S. W. N. Hapsari dan R. Rauf. 2012. **Respon Hambatan Bakteri Gram Positif dan Negatif pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang**

diawetkan dengan Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Kesehatan* 2(1): 61-70

Putra, A. G. 2014. **Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Metanol Teripang Hitam (*Holothuria atra*) terhadap Bakteri *Vibrio cholerae*.** Skripsi. Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Rahmat, R. 1999. **Pemanfaatan Produk Alam Algae Laut untuk Obat dan Kosmetik.** Puspiptek Serpong

Rohmah, W. 2010. **Daya Antibakteri Ekstrak *Sargassum cristaefolium* dengan Berbagai Pelarut terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus*.** Skripsi. Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Rukayadi, Y dan J. K Hwang. 2007. **The Effects of Xanthorrhizol on the Morphology of Candida Cells Examined by Scanning Electron Microscopy.** *Microbiology Indonesia* 1(2): 98-100

Ritonga, M. J. 2005. **Riset Kehumasan.** Jakarta: Gramedia Widiasarana Indonesia

Salirawati, D., F. Meilina dan J. Suprihatiningrum. 2007. **Belajar Kimia Secara Menarik.** Jakarta: Grasindo

Santoso, R. M., D. Praharani dan Purwanto. 2012. **Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*.** Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa 1-4

Sari, Y. D., S. N. Djannah dan L. H. Nurani. 2010. **Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara In Vitro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya.** *KES MAS* 4(3): 144-239

Sastry dan Rao. 1994. **Antibacterial Substance from Marine Algae. Successive Extraction Using Benzene, Chloroform and Methanol.** Department of Biochemistry. Institute of Medical Science, Banaras Hindu University. India

Septiana, A. T dan A. Asnani. 2012. **Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumpuk Laut Coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan Metode Ekstraksi.** *Agrointek* 6(1): 22-28

Septina, E. R. 2014. **Studi Kandungan Mineral Teh Alga Coklat *Sargassum cristaefolium*.** Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Setiawan, V. M., S. Estoepangestie dan S. Koesdarto. 2012. **Pembentukan Biofilm oleh *Streptococcus uberis* Terkait dengan Infeksi Kronis Intramammary.** *JBP* 12(3): 153-157

Sitepu, I. S., I. K Suada dan I. G. K Susrama. 2012. **Uji Aktivitas Antimikroba Beberapa Ekstrak Bumbu Dapur terhadap Pertumbuhan Jamur**

***Curvularia lunata* (Wakk.) Boed. dan *Aspergillus flavus* LINK.** *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* 1(2): 107-114

Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1989. **Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian.** Yogyakarta: Liberty

Sumarsono, S. H., I. Kurniatanty., M. I. Tan dan T. Ruml. 2015. **Potential Cell Proliferation Inhibitor Isolated from Indonesian Brown Algae (Phaeophyta).** *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 7(11): 140-143

Syahza, A. 2014. **Definisi, Ruang Lingkup dan Jenis Penelitian.** Peneliti Senior Universitas Riau

Towaha, J. 2013. **Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camellia sinensis*).** *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri.* 19(3)

Wardani, E., P. Wahyudi dan D. Tantari. 2011. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dan n-Heksan Jamur Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk) Pegler) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.** *Farmasains* 1(3)

Widowati, R. 2008. **Keberadaan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada Udang yang dijual di Rumah Makan Kawasan Pantai Pangandaran.** *VIS VITALIS* 1(1):9-14

Wijesekera, R. O. B. 1991. **The Medicinal Plant Industry.** Washington DC: CRC Press

Winarno, F.G. 1990. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut.** Jakarta: Pustaka Sinar Harapan

Winarno, S., W. F. Ma'ruf dan E. N. Dewi. 2012. **Uji Bioaktivitas Ekstrak *Gelidium* sp. terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.** *Jurnal Perikanan* 1(2):1-9

Yuliani, S dan S. Satuhu. 2012. **Panduan Lengkap Minyak Asiri.** Jakarta: Penebar Swadaya

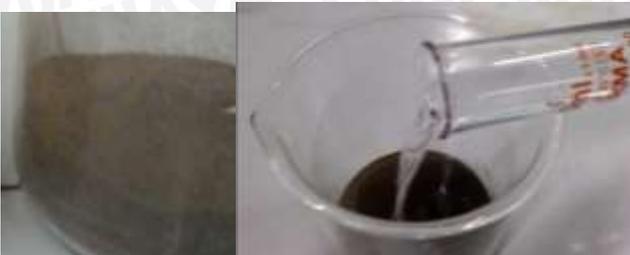
Yulindar, M. 2013. **Karakteristik Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Polifenol dari Teh Alga Coklat (*Sargassum cristaefolium*) dengan Menggunakan Pelarut N-heksan.** *Skripsi.* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang

Zulkifli, Y., Alitheen, N. B., Son, R., Yeap, S. K., Lesley, M. B dan Raha, A. R. 2009. **Identification of *Vibrio parahaemolyticus* isolates by PCR targeted to the *toxR* gene and detection of virulence genes.** *International Food Research Journal* 16: 289-296

LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Alur Penelitian

S. cristaeifolium



Maserasi dengan perbandingan pelarut 1:5



Magnetic stirrer selama 24 jam



Penyaringan



Evaporasi



Ekstrak kasar teh *S. cristaeifolium*





Dilusi tabung



Uji SEM



Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Kasar Teh *Sargassum cristaefolium*

Ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut metanol

Berat teh *S. cristaefolium* = 100 gram

Berat ekstrak kasar = 2,56 gram

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{2,56 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 2,56 \%$$

Ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut aseton

Berat teh *S. cristaefolium* = 100 gram

Berat ekstrak kasar = 2,07 gram

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{2,07 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 2,07 \%$$

Ekstrak kasar teh *S. cristaefolium* dengan pelarut heksan

Berat teh *S. cristaefolium* = 100 gram

Berat ekstrak kasar = 1,47 gram

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1,47 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 1,47 \%$$

Lampiran 3. Pembuatan media APS (*Alkaline Peptone Salt*) cair

Pepton	10 g
NaCl	30 g
Aquades	1 liter

Larutkan semua bahan dalam aquades

Panaskan perlahan lahan

Sterilisasi pada suhu 121°C selama 10 menit

Setelah proses sterilisasi, media diangkat dan didinginkan

