UJI ANTIBAKTERI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK KASAR TEH RUMPUT LAUT COKELAT Sargassum cristaefolium DENGAN PELARUT n-HEKSAN

ARTIKEL SKRIPSI PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh : MOHAMMAD FAJAR NIM. 105080301111023



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2016

UJI ANTIBAKTERI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK KASAR TEH RUMPUT LAUT COKELAT Sargassum cristaefolium DENGAN PELARUT n-HEKSAN

ARTIKEL SKRIPSI PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan BRA WILL Universitas Brawijaya

Oleh: MOHAMMAD FAJAR NIM.10508030111023



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG 2016

UJI ANTIBAKTERI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK KASAR TEH RUMPUT LAUT COKELAT Sargassum cristaefolium DENGAN PELARUT n-HEKSAN

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

> Oleh: MOHAMMAD FAJAR NIM. 105080301111023

Menyetujui, Dosen Pembimbing II

(Eko Waluyo, S.Pi., M.Sc.) NIP. 19800424 200501 1 001

Tanggal: __ 1 0 AUG 2016

Menyetujui, Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Martati Kartikaningsih, MS) NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal: 1 0 AUG 2016

Mengetahui Ketua Jurusan,

Wilajeng Ekawati, MS)

NIP.19620805 198603 2 001 Tanggal:

1 0 AUG 2016

UJI ANTIBAKTERI SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK KASAR TEH RUMPUT LAUT COKELAT Sargassum Cristaefolium DENGAN PELARUT n-HEKSAN

Mohammad Fajar¹, Hartati Kartikaningsih², Eko Waluyo³

Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Sargassum cristaefolium merupakan golongan Alga cokelat diketahui memiliki senyawa bioaktif yang bisa dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri yang merugikan manusia seperti Streptococcus pyogenes dan Aeromonas salmonicida. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan konsentrasi antibakteri terbaik dari ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium terhadap bakteri Streptococcus pyogenes dan Aeromonas salmonicida, mengetahui nilai LC50 ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dengan metode BSLT, serta mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak kasar teh Saegassum cristaefolium dengan uji GC-MS. Metode yang digunakan yaitu teh Sargassum cristaefolium dimaserasi dengan n-heksan (1:5) selama 48 jam pada suhu ruang, hasil maserasi disaring untuk mendapatkan filtrat, kemudian dievaporasi hingga didapatkan ekstrak kasar. Ekstrak kasar diujikan sebagai antibakteri Aeromonas salmonicida dan Streptococcus pyogenes dengan metode uji cakram menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 30% dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Parameter uji antibakteri berupa diameter zona bening. Uji toksisitas dengan LC50 terhadap hewan uji Artemia salina Leach. menggunakan konsentrasi 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan1000 ppm. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dengan pelarut n-heksan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan Streptococcus pyogenes adalah pada konsentrasi 30% yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 12,94 mm. Sedangkan untuk menghambat Aeromonas salmonicida adalah pada konsentrasi 30% juga, yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 7,61 mm. Hasil dari uji GC-MS diduga ekstrak kasar teh Sarggasum cristaefolium mengandung senyawa kimia golongan terpenoid dengan nilai toksisitas LC₅₀ sebesar 346,0904 ppm.

Kata Kunci: Sargassum cristaefolium, antibakteri, toksisitas

- Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
- Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

ANTIBACTERIAL TESTING OF BIOACTIVE CRUDE EXTRACT BROWN SEAWEED TEA Sargassum cristaefolium WITH n-HEKSAN SOLVENT

Mohammad Fajar ¹, Dr.Ir. Hartati Kartikaningsih, M.Si. ², Eko Waluyo, S.Pi, M.Sc ³
Fisheries Technology, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Brawijaya University
Malang

ABSTRACT

Sargassum cristaefolium a class of brown algae are known heaving bioactive compounds that can be used as an antibacterial compound to as Streptococcus pyogenes and Aeromonas salmonicida. The aim of this research was to obtain the best concentration of antibacterial from crude extract of Sargassum cristaesoilum tea againts Streptococcus pyogenes and Aeromonas salmonicida bacteria, knowing LC50 value from crude extract of Sargassum cristaefolium tea with BSLT method, and well as to know bioactive compounds contained in the crude extract of Sargassum cristaefolium tea using GC-MS test. Crude extract bioactive compound was obtain from is macerating Sargassum cristaefolium tea with n-hexane (1:5) for 48 hours at room temperature, filtering the maceration, evaporating to obtain the crude extract. The crude extract was tested as an antibacterial againts Streptococcus pyogenes and Aeromonas salmonicida with paper disc method using concentration 10%, 20%, 30% with three repetitions. Antibacterial parameter test was measured by the diameter of clear zone. Toxicity test with LC₅₀ using animals Artemia salina leach with concentration 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, and 1000 ppm. The results showed that the most effective concentration of crude extract of Sargassum cristaefolium tea with n-hexane solvent in inhibiting the growth of Streptococcus pyogenes was at concentration of 30% which resulted in the average inhibition zone up to 12.94 mm. Meanwhile, to inhibit Aeromonas salmonicida was at concentration of 30% as well, which resultan average of 7.61 mm zone of inhibition. The results of GC-MS test allegedly coarse that crude extract of Sargassum cristaefolium tea contains chemical copound with LC 50 toxicity value of 346,0904 ppm.

Keywords: Sargassum cristaefolium, antibacterial, toxicity

- 1) Student of Fishery and Marine Science Faculty, Brawijaya University
- ²⁾ Lecturer of Fishery and Marine Science Faculty, Brawijaya University

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alga cokelat (Sargassum cristaefolium) merupakan salah satu marga Sargassum Sp. yang bisa dimanfaatkan senyawa bioaktifnya untuk keperluan industri dan kesehatan. Berbagai hasil penelitian menyimpulkan bahwa Senyawa bioaktif yang terkandung dalam Sargassum sp. memiliki berbagai macam pengaruh baik terhadap kesehatan. Sargassum cristaefolium juga mengandung berbagai trace element antara lain kalsium, vitamin, mineral (kalsium, kalium, magnesium, natrium, Fe, iod, Cu, Zn, S, P, dan N), alkohol dan polisakarida. Kandungan polisakarida berupa alginat, laminaran dan fukoidan. Kandungan lainnya vaitu mannitol, pigmen beta karoten, xanthin dan picoxantin yang berwarna merah dan dipakai zat warna untuk lipstik. Kandungan metabolit sekunder dalam alga cokelat juga sudah mulai diteliti antara lain kandungan steroid, alkaloid, fenol dan vitamin. Beberapa alga cokelat telah diteliti aktivitas bioaktifnya sebagai antibakteri (Rahmat, 1999).

Bachtiar et al., (2012), menyatakan bahwa Sargassum sp. memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri pathogen. Hasil penelitian dari Wakhidatur (2011), Sargassum cristaefolium dapat menghasilkan senyawa bioaktif sebagai metabolit sekundernya sangat baik untuk dikonsumsi masyarakat baik dalam bentuk olahan makanan maupun minuman. Selain itu, sebagai tumbuhan laut Sargassum merupakan kandidat obat alam yang cukup menjanjikan. Hal ini dikarenakan pemanfaatan organisme laut sebagai obat-obatan tidak memiliki efek samping yang berbahaya karena bersifat non sintestis (Sari, 2006).

Supirman et al., (2013), menyatakan dalam bukunya Sargassum cristaefolium dapat diolah sebagai minuman sejenis sliming tea yang direkomendasikan bagi seseorang yang memiliki kelebihan berat badan dan ingin mencoba menurunkan berat badannya. Puspita et al., (2010), menambahkan bahwa kunci utama khasiat teh terdapat pada

komponen bioaktif berupa polifenol yang secara optimal terdapat dalam daun teh.

Senyawa bioaktif pada teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium bisa didapat dengan metode ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan adalah maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut dengan simplisia beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (Novianti, 2012). Putranti (2013), meyatakan bahwa maserasi harus didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, buatanol dan air. Senyawa non polar juga hanya akan larut pada pelarut non polar, seperti eter, kloroform dan n-heksan.

Antibakteri merupakan bahan senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri menghambat yang pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang permeabilitas mengakibatkan perubahan membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel (Dewi, 2010). Penelitian mengenai uji antibakteri dari ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium belum banyak dilakukan, sehingga masih perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan data mengenai potensi dari rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium yang diolah menjadi teh.

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukan suatu penelitian untuk mendapatkan dasar teoritis dan bukti-bukti ilmiah kepada masyarakat tentang pemanfaatan Sargassum cristaefolium yang bisa diolah menjadi teh dan bermanfaat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan senyawa bioaktif dari ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium dengan pelarut nheksan sebagai antibakteri, mencari nilai LC50, dan mengetahui kandungan senyawa bioaktif yang didapat dengan menggunakan pelarut nheksan.

Rumusan Masalah 1.2

Kajian tentang pemanfaatan teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium sebagai antibakteri dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pada konsentrasi berapakah yang paling efektif untuk digunakan sebagai antibakteri dari ekstrak kasar teh Sagassum cristaefolium?

Senyawa bioaktif apa yang terkandung pada ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium yang dimaserasi dengan pelarut n-heksan?

1.1 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- Mendapatkan konsentrasi yang paling baik ekstrask kasar teh Sargassum n-heksan cristaefolium dengan pelarut sebagai antibakteri.
- Mendapatkan nilai LC50 dari ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dengan metode
- Mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dengan uji GC-MS

1.2 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan:

- Memberikan informasi kepada masyarakat, pengusaha, dan peneliti tentang kegunaan rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium sebagai penghambat pertumbuhan bakteri pathogen.
- Memberikan pengetahuan bagi pembaca mengenai potensi senyawa bioaktif dari teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium.

1.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 28 September 2015 sampai 1 Desember 2015 di Laboratorium Keamanan Dan Ketahanan Pangan Perikanan, Labratorium Pengendalian Laboratorium Penyakit dan Parasit. Reproduksi FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, dan Laboratorium Central FMIPA Universtas Negeri Malang.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian 2.1

2.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitain ini terdiri dari bahan utama, bahan ekstraksi, uji antibakteri, uji toksisitas, dan uji GCMS. Bahan utama yang digunakan adalah rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium, yang diperoleh dari Desa Cabiye, Kecamatan Talango, Kabupaten, Sumenep, Madura, Jawa Timur.

Bahan yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu pelarut n-heksan teknis, kertas saring Whatman nomor 1, plastik wrap, kertas label, alumunium foil, aquades. Pada proses pengujian antibakteri bahan-bahan yang digunakan meliputi ekstrak kasar teh rumput laut Sargassum cristaefolium, bakteri biakan

murni Aeromonas salmonicida dan Streptococcus pyogenes dengan kepadatan 106 koloni/ml, yang dari diperoleh koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, TSA (Tripton Soya Agar), kertas cakram (paper disc) yang masing-masing berdiameter 6 mm, cotton swap, alkohol, spirtus, aquades, tisu, dan kapas.

Pada pengujian toksisitas bahan yang digunakan adalah ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium, air laut, hewan uji coba Artemia Leach. didapatkan yang Laboratorium Reproduksi, Pemuliaan dan Pembenihan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, sedangkan bahan yang digunakan untuk uji GCMS adalah ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium.

2.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan untuk ekstraksi, uji daya hambat, uji toksisitas dan perlatan untuk analisa senyawa bioaktif ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium. Alat yang digunakan pada proses ekstraksi teh Sargassum adalah gelas ukur 250ml, cristaefolium timbangan digital, beaker glass 1000ml, rotary vacum evaporator merk IKA, corong, spatula, sendok bahan, dan botol vial/botol sampel 15 ml. Alat-alat yang digunakan untuk uji daya hambat meliputi cawan petri, erlenmeyer 250ml, autoklaf untuk sterilisasi alat, timbangan analitik, inkubator, jangka sorong, cutter, pensil, pipa kapiler, pinset, beaker glass 50 ml, pipet tetes, instrumen GC-MS (Gas Chromatography Mass Spectrometer) merk Simadzu dan kamera untuk mendokumentasikan setiap proses yang dilakukan serta hasil yang didapat.

2.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Suryasubrata (1989), metode eksperimen adalah kegiatan percobaan untuk melihat hasil atau hubungan antara variabelvariabel yang diselidiki. Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat dengan cara memberikan perlakuan tertentu kelompok eksperimen (Nazir,1989).

Metode dalam uji daya hambat/uji cakram adalah metode eksperimen. Metode ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari penggunaan konsentrasi berbeda pada ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium terhadap pertumbuhan bakteri uji Aeromonas salmonicida dan Streptococ cuspyogenes. Indikator yang ingin dicapai adalah adanya

perbedaan diameter zona bening pada setiap konsentrasi yang diberikan dimana semakin lebar zona bening, maka semakin efektif daya antibakteri yang dihasilkan.

Metode dalam uji toksisitas juga merupakan metode eksperimen, yaitu dilakukan dengan cara membuat beberapa konsentrasi dari sampel yang diujikan terhadap sejumlah larva udang Artemia salina leach. berumur 48 jam kemudian dihitung jumlah Artemia salina leach. yang mati untuk memperoleh nilai LC₅₀ (MC Laughlin,1992). Konsentrasi yang digunakan pada uji toksisitas ini adalah dimulai dari konsentrasi terendah sampai tertinggi yaitu 0 ppm (kontrol),62,5 ppm, 125 ppm,250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Setiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

2.2.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian uji daya hambat / uji cakram adalah n-heksan sebagai pelarut pengekstrak teh rumput laut coklat Sargassum cristaefolium, sedangkan variabel terikatnya adalah perbedaan lebar diameter daerah hambatan antibakteri yang terlihat sebagai zona bening di sekitar kertas cakram dan dinyatakan dalam satuan mm. Variabel bebas dalam penelitian uji toksisitas sama seperti uji daya hambat / uji cakram yaitu nheksan sebagai pengekstrak teh rumput laut coklat Sargassum cristaefolium, sedangkan variabel terikatnya adalah jumlah Artemia salina Leach, yang mati dan dinyatakan sebagai nilai LC_{50} .

2.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam uji daya hambat / uji cakram yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 5 perlakuan yakni 3 perlakuan dengan menggunakan ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium (10%, 20%, 30%) (b/v). Masing-masing perlakuan diuji daya hambatnya sebanyak 3 ulangan dengan bakteri Aeromonas salmonicida dan Streptococcus pyogenes terhadap zona hambat bakteri yang terbentuk dari setiap perlakuan.

Rancangan penelitian untuk toksisitas ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium dengan hewan uji Artemia salina leach. ini dilakukan dengan menggunakan lima taraf variasi konsentrasi larutan uji ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium mulai dari konsentrasi terendah sampai yang tertinggi yaitu 0ppm (kontrol), 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

2.2.3 Parameter Uji

Parameter uji yang dilakukan adalah parameter kuantitatif, yaitu berdasarkan data yang diperoleh. Untuk uji daya hambat bakteri dengan metode uji cakram parameternya berdasarkan luas zona hambat yang dihasilkan dari masing-masing konsentrasi yang berbeda. Sedangkan untuk uji toksisitas parameternya berdasarkan jumlah Artemia salina Leach. yang mati pada tiap konsentrasi.

2.2.4 Analisis Data

Pada uji daya hambat / uji cakram mengetahui pengaruh perlakuan untuk terhadap respon parameter yang diukur dilakukan analisis kaergaman (ANOVA) dengan uji F pada taraf 5% dan 1%. Jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNJ pada taraf 5% untuk mengetahui perlakuan terbaik. Sedangkan pada uji toksisitas ditentukan berdasarkan analisis probit melalui tabel probit dan dibuat persamaan regresi linier:

y = bx + adimana : y = angka probit, x = logkonsentrasi.

Dari persamaan tersebut kemudian dihitung LC₅₀ dengan memasukkan nilai probit (50% kematian).

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Ekstrak Teh Sargassum cristaefolium

Serbuk teh Sargassum cristaefolium kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol teknis (polar) dengan perbandingan 1:5 selama 2x24 jam.Maserasi dilakukan pada temperatur 40°C di dalam sambil sesekali dilakukan ruangan gelap pengocokan (penghomogenan). Ekstraksi ini menggunakan metode maserasi yaitu metode dengan merendam sampel dalam pelarut, dengan tujuan agar komponen bioaktif pada sampel Sargassum cristaefolium terlarut dalam pelarut metanol.Kemudian hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat.Filtrat hasil maserasi dievaporasi dengan menggunakan rotary vacum evaporator pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kasar Sargassum cristaefolium.

Proses pemisahan pelarut dilakukan dengan rotary vacum evaporator tujuannya agar pelarut dapat dipisahkan pada tekanan tinggi dan suhu yang lebih rendah daripada suhu titik didih pelarut yang digunakan sehingga senyawa dalam ekstrak tidak rusak. Ekstrak hasil evaporasi ditampung dalam botol vial.

2.3.2 Uji Cakram

Langkah awal yang dilakukan pada uji cakram yaitu menyiapkan media pertumbuhan bakteri uji. Media yang digunakan yaitu TSA untuk menumbuhkan bakteri Aeromonas salmonicida dan Streptococcus pyogenes. Biakan murni bakteri Aeromonas salmonicida dan Streptococcus pyogenes dengan kepadatan 108 koloni/ml. koleksi milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Peremajaan bakteri Aeromonas salmonocida dan Streptococcus pyogenes dilakukan dengan cara menanam pada media TSA miring. Kemudian hasil penanamannya dipanen dan diambil menggunakan kawat ose lalu dimasukkan kedalam NaFis Kemudian campuran bakteri dihomogenkan dalam NaFis dan ditanam kemedia TSA menggunakan pipet serologis sebanyak 0,1 ml. Setelah itu bakteri ditanam dengan metode tehar

Kertas cakram direndam dalam ekstrak teh Sargassum cristaefolium dengan berbagai konsentrasi (10%, 20%, 30%) selama 15-30 menit. Kemudian kertas cakram tersebut ditempelkan TSA yang berisi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati dan diukur zona hambatan dilakukan dengan mengukur diameter zona berning yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Penghambatan pertumbuhan bakteri penguji oleh ekstrak sampel yang meliki kandungan antibakteri terlihat zona bening yang tidak ditumbuhi bakteri uji.

2.3.3 Uji Toksisitas

Sebelum melakukan uji toksisitas terlebih dahulu menyiapkan hewan uji Artemia salina leach. Penyiapan larva dilakukan dengan mengambil telur Artemia salina leach. sebanyak 5 gram. Telur Artemia salina leach. direndam didalam air laut. Suhu penetasan adalah ± 25-30°C dan pH ± 6-7. Telur akan menetas setelah 18-24 jam dan larvanya disebut naupli. Naupli siap untuk uji BSLT setelah larva ini berumur 48 jam (Awik et al., 2006).

Uji toksisitas pada Artemia salina leach, larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm dilakukan 3 kali pengulangan untuk setiap konsentrasi yang telah ditentukan pada masing-masing sampel dan dibandingkan dengan kontrol (0 ppm). Bejana uji yang digunakan adalah botol vial. 10 ekor Artemia salina leach. dimasukkan kedalam setiap botol vial yang diberikan ekstrak larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Pengamatan jumlah individu yang mati dilakukan selama 24 jam, dan pada akhir pengamatan dihitung jumlah total individu Artemia salina Leach. yang mati (Muadja, et al., 2013).

2.3.4 GC-MS

Analisa GC-MS dilakukan terhadap ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium yang diekstrak dengan menggunakan pelarut nheksan. Gas pembawa yang digunakan adalah helium dengan laju aliran diatur sebagai berikut. Suhu injektor 290° C, suhu awal oven 100° C, Isju kenaikan suhu 10° C/menit, dan suhu akhir oven 290° C. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan perangkat lunak PC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Teh Sargassum cristaefolium

Ekstraksi Sargassum cristaefolium teh dilakukan untuk mendapatkan senyawa bioaktif yang terkandung didalam teh Sargassum cristaefolium dengan metode maserasi tunggal. Maserasi dilakukan dengan merendam 100 gr teh Sargassum cristaefolium yang telah dihaluskan dalam pelarut n-heksan (1:5 b/v) selama 2x24 jam.

Pengunaan pelarut n-heksan juga digunakan dalam penelitian Siregar et al., (2012), Septiani dan Ari (2012), dan Yunianto et al., (2014), dalam mengisolasi senyawasenyawa bioaktif pada rumput laut cokelat Sargassum sp. baik dengan maserasi tunggal ataupun sacara bertingkat. Didukung oleh Munawaroh dan Handayani (2010), heksan memiliki sifat stabil dan mudah menguap serta selektif dalam melarutkan zat. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Ebtananto (2010) menyatakan bahwa senyawa antibakteri yang diekstraksi dengan pelarut heksan menghasilkan diameter zona penghambatan yang lebih besar jika dibandingkan dengan pelarut methanol dan aceton.

Pelarut n-heksan yang dituangkan kedalam beaker glass berisi teh Sargassum cristaefolium mengalami perubahan warna yang semula bening menjadi berwana hijau bening, hal ini diduga senyawa yang terdapat pada teh Sargassum cristaefolium kemungkinan tertarik keluar oleh pelarut n-heksan sesuai dengan kepolaran senyawa yang terkandung dalam teh Sargassum cristaefolium. Setelah proses maserasi, dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas Whatman no.1 sehingga didapatkan filtrat. Filtrat hasil maserasi yang diperoleh berwarna hijau bening. Filtrat kemudian disentrifius dan disaring kembali dengan menggunakan kertas Whatman no.1 untuk memisahkan filtrat dengan supernatan.

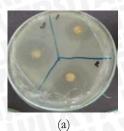
Hasil maserasi yang telah dilakukan penyaringan kemudian ditampung di botol kaca dan ditutup rapat agar tidak mudah menguap. Untuk mendapatkan senyawa ekstrak murni langkah selanjutnya dilakukan proses evaporasi untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh senyawa ekstrak kasar murni yang berbentuk seperti pasta. Ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium yang didapat digunakan untuk uji antibakteri dengan tujuan untuk mengetahui efektifitasnya dalam menghambat atau membunuh bakteri, sedangkan LC50 dilakukan untuk mengetahui sifat ketoksikan dari ekstrak kasar teh serta cristaefolium, dilakukan Sargassum identifikasi terhadap senyawa yang terkandung didalam ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dengan menggunakan instrumen GC-MS.

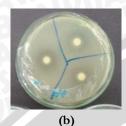
3.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dalam penelitian menggunakan bakteri gram positif (Streptococcus pyogenes) dan bakteri gram negatif (Aeromonas salmonicida). Menurut Jawetz et al., (1996), menyebutkan bahwa Streptococcus pyogenes adalah bakteri patogen utama manusia yang berkaitan dengan invasi lokal atau sistematik dan gangguan imunologik setelah Streptococcus, bakteri infeksi ini menyebabkan penyakit epidemik antara lain Scarlet fever, erisipelas, radang tenggorokan, febris puepuralis, rheumatic fever, dan bermacam-macam penyakit lainnya. Sedangkan Aeromonas salmonicida umumnya menyebabkan furunculosis pada ikan salmon. Furunculosis adalah salah satu dari sekelompok penyakit septicemia (Richards dan Robert, 1978).

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode uji cakram. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini dibuat bervariasi dengan Konsetrasi yang digunakan mengacu pada metode Kirby-bauer (1966), yaitu berkisar 10%, 20%, dan 30%. Perbedaan konsentrasi pada uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium dilakukan untuk mengetahui efektifitas dari konsentrasi terbaik dalam menghambat pertumbuhan Streptococcus pyogenes dan Aeromonas salmonicida.

Efektivitas konsentrasi yang digunakan pada pengujian pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium ditentukan dengan luas zona bening yang menunjukkan semakin luas zona bening yang dihasilkan, maka semakin baik konsentrasi yang diberikan. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dapat dilihat pada gambar 1.

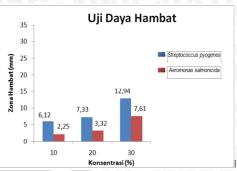




Gambar 1. Hasil terbaik uji antibakteri
(a) Streptococcus pyogenes dan
(b) Aeromonas salmonicida

Berdasarkan data yang diperoleh, uji daya hambat ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium menunjukkan hasil positif dalam menghambat bakteri Streptococcus pyogenes dan Aeromonas salmonicida. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona bening yang terlihat di sekitar kertas cakram yang telah diberi ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Lay (1994) bahwa kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

Pada uji daya hambat ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium terhadap bakteri Streptococcus pyogenes diperoleh hasil zona bening yang terbentuk pada konsentrasi 10% didapatkan rata-rata sebesar 6,12 mm, konsentrasi 20% didapatkan rata-rata sebesar 7,33 mm, dan konsentrasi 30% didapatkan rata-rata sebesar 12,94 mm. Sedangkan uji daya hambat pada bakteri Aeromonas salmonicida didapatkan hasil zona bening pada konsentrasi 10% didapatkan rata-rata sebesar 2,25 mm, konsentrasi 20% didapatkan rata-rata sebesar 3,32 mm, dan konsentrasi 30% didapatkan rata-rata sebesar 7,61 mm.Grafik zona hambat bakteri Streptococcus pyogenes dan Aeromonas salmonicida disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik zona hambat bakteri Streptococcus pyogenes dan Aeromonas salmonicida dengan konsentrasi yang berbeda.

Gambar 2. menunjukan bahwa konsentrasi ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan Streptococcus pyogenes pada konsentrasi 30% menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 12,94 mm. Sedangkan untuk menghambat Aeromonas salmonicida adalah pada konsentrasi 30% yang menghasilkan rata-rata zona hambat sebesar 7,61 mm. Dari data diatas dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi berpengaruh terhadap daya hambat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Peleczar dan Chan (1986), Nugraha (2014), dan Pratama (2015), menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Sesuai dengan pernyataan Davis dan Stout (1971), yang menyebutkan bahwa bila memiliki daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti memiliki kekuatan antibakteri sangat kuat, bila daerah hambatan yang dimilikinya berkisar antara 10-20 mm berarti sedang dan bila daerah hambatannya 5 mm atau kurang dari 5 mm maka aktivitas antibakteri tergolong lemah, sehingga untuk ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dengan konsentrasi 30% digolongkan memilki kemampuan aktivitas antibakteri sedang.

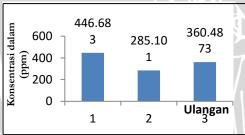
Diketahui pula dari data tersebut bahwa daya hambat pada Aeromonas salmonicida lebih besar daripada Streptococcus pyogenes. Hal ini karena Aeromonas salmonicida merupakan bakteri gram negatif yang memiliki sifat sensitif terhadap komponen antibakteri. Struktur penyusun dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa peptidoglikan dan lapisan dalam berupa lipopolisakarida, sehingga mempersulit senyawa antibakteri masuk kedalam selnya (Pelczar dan Chan, 1986). Oleh karena itu, bakteri Aeromonas salmonicida lebih tahan

terhadap ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dibandingkan dengan bakteri Streptococcus pyogenes.

Iskandar et al., (2009), menyebutkan respon hambatan mikroba gram positif lebih kuat dibandingkan mikroba gram negative, kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun dinding sel antara mikroba gram positif dan gram negatif. Dinding sel mikroba gram positif banyak mengandung teikoat dan asam teikoronat serta molekul polisakarida. Ditambahkan oleh komponen kimia Irianto (2006),melindungi sel dari kegiatan lisis enzim, sedangkan zat-zat lain menentukan reaksi sel pada pengecatan gram dan ada pula yang menarik dan mengikat bakteriofage.

3.3 Uji Toksisitas

Hasil uji toksisitas ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* dengan hewan uji *Artemia salina* leach. didapatkan nilai LC₅₀ sebesar 346,0904ppm. Hasil nilai LC₅₀ tersebut menunjukkan bahwa 50% kematian hewan uji *Artemia salina* leach. pada konsentrasi larutan ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* pada saat konsentrasi 346,0904 ppm. Grafik nilai LC₅₀ hasil uji toksisitas disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik nilai LC₅₀ hasil uji toksisitas ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium

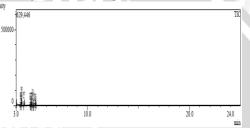
Dari grafik di atas dapat diketahui nilai LC₅₀ paling tinggi yaitu pada ulangan 1 sebesar 446,683 ppm, pada ulangan ke tiga sebesar 360,48 ppm dan nilai LC₅₀ erendah pada ulangan ke dua sebesar 285,101 ppm, sehingga didapat nilai rata-rata LC₅₀ dari ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* sebesar 346,0904 ppm.

Tingkat toksisitas ekstrak dapat ditentukan dengan melihat harga LC₅₀ dari suatu senyawa tersebut. Suatu ekstrak dianggap sangat toksik bila memiliki nilai LC₅₀ dibawah 30 ppm, dianggap toksik bila memiliki nilai LC₅₀ 30 – 1000 ppm, dan dianggap tidak toksik bila nilai LC₅₀ di atas 1000 ppm. Semakin kecil harga LC₅₀ semakin toksik suatu senyawa (Mayer*et al.*, 1982).

Berdasarkan dari pernyataan tersebut maka ekstrak kasar teh *Sargassum cristaefolium* diketegorikan kedalam senyawa yang bersifat toksik. Hal ini ditunjukkan dari nilai LC₅₀ yang diperoleh yaitu sebesar 346,0904 ppm.

3.4 Identifikasi Senyawa Bioaktif dengan GC-MS

Uji GC-MS ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dilakukan di Laboratorium SENTRAL FMIPA Universitas Negeri Malang. Adapun hasil dari GC-MS adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu senyawa. Spektra Gas Kromatografi ekstrak Sargassum cristaefolium disajikan pada Gambar 4.



Hasil analisis kandungan senyawa pada ekstrak kasar teh Sargassum cristaefolium dengan instrument GC-MS yang dilakukan di laboratorium Central FMIPA Universitas Negeri Malang menunjukkan ada 10 puncak, 3 diantara senyawa tersebut diduga berpotensi sebagai antibakteri. Dari ketiga senyawa yang berhasil teridentifikasi dan mempunyanyi kemampuan sebagai antibakteri jika diurutkan sesuai persen aerea adalah senyawa β-ionone 5,6-epoxide, piperitenone, dan Dendrolasin. Ketiga senyawa ini termasuk kedalam golongan terpenoid. Sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Septiani dan Ari (2012), hal ini kemungkinan disebabkan karena dalam strukturnya terpenoid mempunyai bagian polar dan non polar, tetapi bagian non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti n-Heksan. Ditambahkan oleh Sumarsono et al., (2015), bahwa alga cokelat Sargasssum myriocystum J. G. Agardh, Turbinaria omata (Turner) J. G. Agardh, Turbinaria decurrens bory yang diekstraksi dengan pelarut heksan mengandung terpenoid.

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 yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan pertumbuhan nutrisi, sehingga terhambat atau mati (Cowan, 1999).

Grafik puncak yang dihasilkan dari uji dilakukan, peak yang ditampilkan sangat tipis, diduga senyawa yang terkandung pada ekstrak kasar teh rumput laut cokelat tidak tervolatil secara sempurna sehingga yang senyawa yang terkandung didalam ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium tidak terbaca dengan sempurna.

Dari hasil penelitian uji fitokimia ekstrak rumput laut cokelat Sargassum Sp. yang (2014),dilakukan oleh Santi et al., bahwa Sargassum menunjukkan mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid, dan flavonoid. Ditambahkan oleh Siregar et al., (2012), keaktifan biologis dari senyawa alkaloid disebabkan karena adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Adanya gugus basa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa-senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan juga DNA bakteri yang merupakan penyusun utama inti sel yang merupakan pusat pengaturan segala kegiatan

Reaksi ini terjadi karena secara kimia suatu senyawa yang bersifat basa akan bereksi dengan senyawa asam dalam hal ini adalah asam amino karena sebagian besar asam amino telah beraksi dengan gugus basa dari senyawa alkaloid. Perubahan susunan asam amino ini jelas akan merubah keseimbangan genetik pada asam DNA sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA pada inti sel bakteri akan mendorong terjadinya lisis pada inti sel, sehingga akan terjadi kerusakan sel. Kerusakan sel mengakibatkan sel-sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme sehingga akan mengalami lisis atau kerusakan (Siregar et al., 2012).

Sabir (2005),dalam penelitiannya menjelaskan bahwa senyawa flavonoid menghambat memiliki kemampuan pertumbuhan bakteri dengan beberapa mekanisme yang berbeda, antara lain flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Senyawa saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh (Assani, 1994). Senyawa /triterpenoid juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa steroid

menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri.

Tanin memiliki persenyawaan fenol yang memilki gugus hidroksil di dalamnya maka mekanisme dalam menginaktifkan bakteri dengan memanfaatkan perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Apabila sel bakteri semakin banyak mengandung lipid maka dibutuhkan konsentrasi yang tinggi untuk membuat bakteri tersebut lisis (Siregar et al., 2012).

PENUTUP

Kesimpulan 4.1

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwaekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium memiliki aktivitas antibakteri terhadap Streptococcus pyogenes dan Aeromonas salmonicida. Hasil uji aktivitas antibakteri terbaik ditunjukkan pada konsentrasi 30% yaitu sebesar 12,94 mm (Streptococcus pyogenes) dan 7,61 mm (Aeromonas salmonicida) serta bersifat bakteriosidal. Hasil dari uji GC-MS diduga ekstrak kasar teh Sarggasum cristaefolium mengandung senyawa kimia golongan terpenoid dengan nilai toksisitas LC50 sebesar 346,0904 ppm (toksik).

4.2 Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang identifikasi senyawa yang terkandung didalam ekstrak kasar teh rumput laut cokelat Sargassum cristaefolium dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FTIR, dan LCMS-MS sehingga diketahui senyawa bioaktifnya secara mutlak.

DAFTAR PUSTAKA

Assani S.1994.Mikrobiologi Kedokteran. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.

Awik, P. D. N., Nurlita, F., Rachmat. 2006. Uji Euchema Toksisitas Ekstrak Alvarezi terhadap Artemia salina Studi Pendahuluan Sebagai Potensi Antikanker. Jurnal Akta Kimia Indonesia. Vol.2, No.1, Hal.41-

Bachtiar S. Y., Tjahjaningsih W., Sianti N. Ekstrak 2012.Pengaruh Alga Cokelat (Sargassum sp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri

- Escherichia coli. journal of marine and coastal science, 1(1), 53-60, Universitas Airlangga.Surabaya.
- Cowan, M., M., 1999, Plant Products As Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Reviews. Vol.12, No.4, 564-82.
- Davis dan Stout.1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. Journal Of Microbiology.vol 22
- Dewi F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, Linnaeus) Bakteri Pembusuk terhadap Daging Segar. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Halaman 1-38.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 256 hlm.
- Iskandar, Y., Dewi R., Rini R. D.2009. Uji Antibakteri Aktivitas Ekstrak Etanol Rumput Laut (Eucheuma cottoni) Terhadap Bakteri Escherichia coli Dan Bacillus Cereus. Jurusan Farmasi Fakultas Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Jawetz, Μ, dan Adelberg's. 1996. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 20. Judul asli Medical Microbiology Alih bahasa Edi Nugroho, Maulany R.F., Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal. 11-34 dan 317-371.
- Lay, B.H. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium.PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Mayer, B. N., Ferrigni, N. R. Putnam, J. E. Jacobson, L. B., Nichols, D. E., dan J.L. Mc Laughlin.1982. Brine Shrimp A Convenient General Biassay for Active Plant Constituents. Planta Medica, 45: 31-34 pp.
- Munawaroh S., Handayani P.A.2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (Cytrus hystrix d.c.) Dengan pelarut etanol dan n-Heksan.jurnal

- teknik vol.2, no.1. kopetensi Universitas Negeri Semarang: Semarang.
- Nazir, M.1989. Metode Penelitian. PT. Ghalia Indeonesia. Jakarta.
- Ika. 2013.**Skrining** Ristyana Putrantri. Dan Fitokimia **Aktivitas** Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata Dari Jepara. FPIK.Universitas Diponegoro: Semarang.
- Puspita, S., D. Unus Dan L. Handayani.2010. Kandungan Evaluasi Total Polifenol Aktivitas Dan Antioksidan Minuman Ringan Fungsional Teh-Mengkudu Pada Berbagai Formulasi. Universitas Jember: Jember.
- Rakhmat, Jalaluddin.1999.Metode Penelitian Komunikasi. Bandung. PT. Remaja Rosda Karya.
- A.2005. Aktivitas Sabir Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona Sp Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans vitro). Majalah (In Kedokteran Gigi (dentj) 38:135-141.
- Santi I. K., Radjasa O. K., Widowati I.2014.Potensi Rumput Laut Sargassum cristaefolium Sebagai Sumber Senyawa Antifouling. FPIK. Universitas Brawijaya: Malang.
- Septiana A.T., Asnani A.,2012. Kajian Sifat Fisiko Kimia Ekstrak Rumput Laut Cokelat Sargasssum duplicatum Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi.FP,UNSOED: Purwokerto.
- Siregar A.F., Sabdono A., Pringgenies D.2012. Antibakteri Potensi Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit Pseudomonas Staphylococcus auruginosa, Micrococcus epidermis, dan luteus. Journal of marine research, Volume 1, No.2, hal:152-160. Universitas Diponegoro: Semarang.

Supirman, Kartikaningsih H., Zaelani K.2013.

Pengaruh Perbedaan pH
Perendaman Asam Jeruk Nipis
(Citrus auratifolla) Dengan
pengeringan sinar matahari
terhadap kualitas teh Alga coklat
(Sargassum filipendula). Journal
THPi, Vol.I No.1. Universitas
Brawijaya. Malang.

Wakhidatur, R. 2011. Daya Antibakteri
Ekstrak Sargassum cristaefolium
Dengan Berbagai Pelarut
Terhadap Eschericia Coli Dan
Vibrio Parahaemolyticus.
Universitas Brawijaya. Unpublished.

