

repository.ub.ac.id

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) TERHADAP *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Adhita Puteri Aulia

NIM : 155070100111047

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) TERHADAP *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* SECARA
IN VITRO

Oleh:

Adhita Puteri Aulia

NIM. 155070100111047

Telah diuji pada

Hari: Jumat

Tanggal: 18 Januari 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

dr. Safitri Dwicahyani, M.P.H.

NIP. 198008152009122003

Pembimbing-I/Penguji-II,

Pembimbing-II/Penguji-III,

Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt.

NIP. 195408231981032001

dr. Dhany Prafita Ekasari, Sp.KK

NIP.198506152018032001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran

dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Adhita Puteri Aulia
NIM : 155070100111047
Program Studi : Sarjana Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 18 Januari 2019

Yang membuat pernyataan,



Adhita Puteri Aulia

NIM. **155070100111047**

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*”. Dengan terselesainya Tugas Akhir ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. **Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt.**, selaku dosen pembimbing I yang dengan sabar membantu dalam memberi arahan dan koreksi dari awal hingga akhir penulisan, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. **dr. Dhany Prafita Ekasari, Sp.KK**, selaku dosen pembimbing II yang memberikan masukan dan koreksi dengan sabar, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. **dr. Safitri Dwicahyani, M.P.H.** sebagai Ketua Tim Penguji Ujian Tugas Akhir yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
4. **Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes.**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. **dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)**, selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. **Bu Suciati** selaku analis Mikrobiologi yang membantu penulis dalam penelitian dan memberikan solusi dari masalah yang dihadapi peneliti dalam menyelesaikan Tugas Akhir.



7. Kedua orang tua saya yang saya sayangi dan cintai **Bapak Moh. Slamin** dan **Ibu Sutarni**, serta saudara tersayang **Mas Budi, Mbak Ayuh, Mas Hendri, dan Regita** atas doa yang tidak pernah putus, limpahan kasih sayang, saran, dan motivasi yang telah diberikan sejak saya kecil hingga saat ini.
8. Sahabat-sahabat ku yang saya sayangi, **Nabila, Salis, dan Nisa** yang selalu memberikan doa, saran, dan semangat baik dalam suka maupun duka.
9. Teman-teman seperjuangan saya, kelas **PD-B 2015** yang senantiasa mengisi hari-hari perkuliahan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
10. Dan semua pihak yang telah membantu menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis membuka diri untuk segala kritik dan saran. Semoga Tugas Akhir ini bermanfaat bagi pembaca khususnya profesi di bidang kesehatan.

Malang, 18 Januari 2019

Penulis

ABSTRAK

Aulia, Adhita Puteri. 2019. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* secara *In Vitro***. Tugas Akhir. Progam Studi S1 Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt. (2) dr. Dhany Prafitas Ekasari, Sp. KK

Salah satu penyebab infeksi yang menjadi masalah kesehatan masyarakat dunia dan menyebabkan peningkatan morbiditas dan mortalitas paling sering adalah infeksi karena bakteri yang salah satunya karena bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Terapi dari infeksi MRSA adalah dengan pemberian antibiotik, tetapi saat ini mengalami banyak resistensi pada antibiotik, hanya vankomisin yang tidak resisten. Maka dari itu perlu terapi alternatif dari bahan alam yaitu alga merah (*Eucheuma cottonii*). Alga merah memiliki kandungan triterpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu sintesis protein bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak alga merah terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* dengan menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium melalui uji potensi antimikroba metode dilusi agar. Konsentrasi ekstrak alga merah yang digunakan adalah 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, dan 18% dengan empat kali pengulangan. Analisis statistik menggunakan Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak alga merah terhadap pertumbuhan bakteri MRSA ($p = 0,000$). Uji Korelasi Spearman menunjukkan nilai $r = -0,896$, mengartikan adanya hubungan sangat kuat antara peningkatan ekstrak konsentrasi alga merah dengan penurunan jumlah koloni bakteri MRSA. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak alga merah memiliki efek antibakteri terhadap MRSA dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 15%.

Kata kunci : *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, alga merah (*Eucheuma cottonii*), antibakteri.

ABSTRACT

Aulia, Adhita Puteri. 2019. **Antibacterial Activity Test of Red Alga Extract (*Eucheuma cottonii*) towards Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* through In Vitro Application.** Final Assignment. Study Program Bachelor in Medicine, Faculty of Medicine, University Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt. (2) dr. Dhany Prafita Ekasari, Sp. KK

One of the causes of infection which is a public health problem in the world and causes an increase in morbidity and mortality is most often an infection due to bacteria, one of which is due to the bacteria *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Therapy of MRSA infection is by giving antibiotic, but currently experiencing a lot of resistance to antibiotics, only vancomycin is not resistant. Therefore it is necessary for alternative therapies from natural ingredients, namely red algae (*Eucheuma cottonii*). Red algae has triterpenoid content which can inhibit bacterial growth by interfering with bacterial protein synthesis. The purpose of this study was to determine the antibacterial effect of red algae extract on *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* by using a laboratory experimental research design through a test of the potential antimicrobial dilution method. The concentration of red algae extract used was 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, and 18% with four repetitions. Statistical analysis using Kruskal Wallis showed a significant difference in changes in the concentration of red algae extract to the growth of MRSA bacteria ($p = 0.000$). The Spearman Correlation Test showed a value of $r = -0.896$, interpreting a very strong relationship between an increase in the concentration of red algae extract and a decrease in the number of colonies of MRSA bacteria. Based on the results of the study, it can be concluded that the red algae extract has an antibacterial effect on MRSA with a Minimum Inhibition concentration (MIC) of 15%.

Keyword: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, red algae (*Eucheuma cottonii*), antibacterial

DAFTAR ISI

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan	xvi
BAB 1. Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2. Tinjauan Pustaka	7
2.1 <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	7
2.1.1 Klasifikasi	7



2.1.2 Epidemiologi.....	7
2.1.3 Morfologi dan Identifikasi	8
2.1.4 Toksin	9
2.1.5 Pembiakan	10
2.1.6 Karakteristik Pertumbuhan	11
2.1.7 Struktur Antigen	12
2.1.8 Manifestasi Klinis	12
2.1.9 Tes Diagnostik	13
2.1.10 Terapi	14
2.1.11 Pencegahan	15
2.2 <i>Eucheuma cottonii</i>	15
2.2.1 Klasifikasi	15
2.2.2 Morfologi	16
2.2.3 Ekologi.....	17
2.2.4 Kandungan	18
2.2.4.1 Flavonoid	18
2.2.4.2 Alkaloid	19
2.2.4.3 Triterpenoid.....	20
2.2.4.4 Steroid.....	20
2.3 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	21
2.3.1 Menghambat Sintesis dinding Sel	21
2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Plasma.....	22
2.3.3 Menghambat Sintesis Protein	22
2.3.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat.....	22
2.4 Metode Ekstrak Alga Merah	23



2.5 Uji Aktivitas Antibakteri	23
2.5.1 Metode Dilusi	24
2.5.1.1 Dilusi Agar	24
2.5.1.2 Dilusi Tabung.....	24
2.5.2 Metode Difusi	25
BAB 3. Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian.....	26
3.1 Kerangka Konsep	26
3.2 Hipotesis Penelitian	28
BAB 4. Metode Penelitian	29
4.1 Rancangan Penelitian.....	29
4.2 Populasi Penelitian	29
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	30
4.4 Variabel Penelitian.....	30
4.4.1 Variabel Bebas (<i>Independent Variable</i>)	30
4.4.2 Variabel Tergantung (<i>Dependent Variable</i>).....	30
4.5 Definisi Operasional.....	30
4.6 Alat dan Bahan Penelitian	31
4.6.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Alga Merah (<i>Eucheuma cottonii</i>).....	31
4.6.2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri	32
4.6.3 Alat dan Bahan Uji Dilusi Agar.....	32
4.7 Metode Pengumpulan Data.....	32
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Alga Merah (<i>Eucheuma cottonii</i>) ...	32
4.7.2 Identifikasi Bakteri Uji <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>	33

4.7.2.1 Pewarnaan Gram	33
4.7.2.2 Tes Katalase.....	34
4.7.2.3 Tes Koagulase.....	35
4.7.2.4 Tes Kepekaan Bakteri Terhadap Cefoxitin	35
4.7.3 Preparasi Uji Antibakteri	35
4.7.4 Uji Dilusi Agar.....	37
4.7.5 Uji Antibakteri Ekstrak Alga Merah	37
4.7.6 Skema Prosedur Penelitian	39
4.8 Analisis Data	40
BAB 5 Hasil Penelitian dan Analisis Data	41
5.1 Data Hasil Penelitian	41
5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri MRSA	41
5.1.2 Hasil Ekstrak Alga Merah dan Uji Fitokimia	43
5.1.3 Hasil Uji Eksplorasi	44
5.1.4 Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi	44
5.2 Analisis Data	47
5.2.1 Uji Normalitas	48
5.2.2 Uji Kruskal Wallis	48
5.2.3 Uji Mann-Whitney	48
5.2.4 Uji Korelasi Spearman	50
BAB 6 Pembahasan.....	51
6.1 Identifikasi Bakteri MRSA	51
6.2 Dilusi Agar dan Efek Senyawa Aktif sebagai Antibakteri.....	51
6.3 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran	53
6.4 Keterbatasan Penelitian	54

BAB 7 Kesimpulan	55
7.1 Kesimpulan	55
7.2 Saran.....	55
Daftar Pustaka	57
Lampiran	62



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Hasil Uji Fitokimia	44
Tabel 5.2 Pertumbuhan Koloni <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> setelah Diberi Ekstrak Alga Merah	46
Tabel 5.3 Hasil Uji Mann-Whitney	49



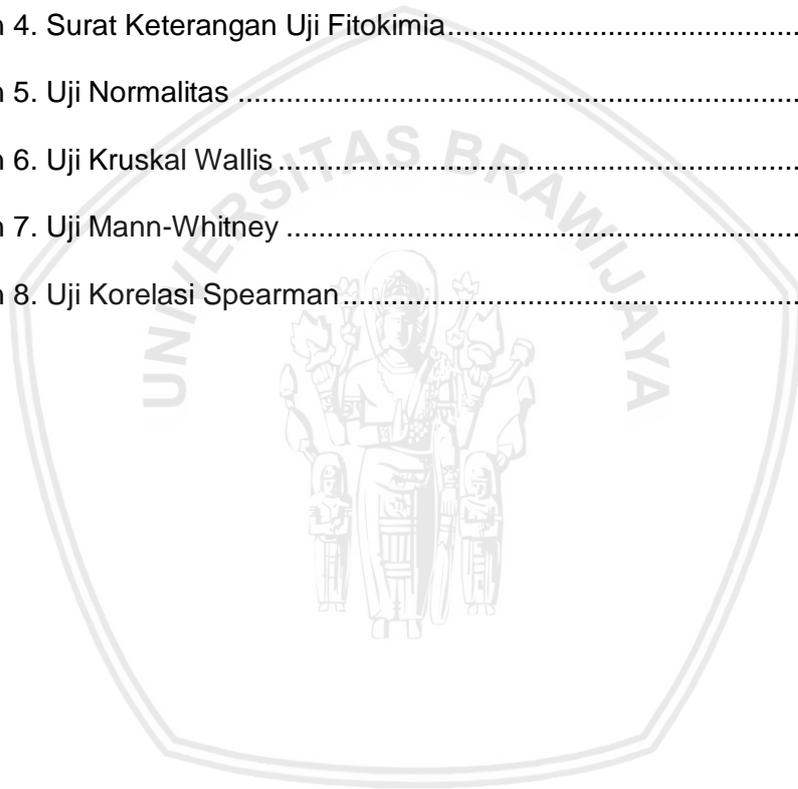
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Staphylococcus aureus pada Pewarnaan Gram secara Mikroskopis dengan Perbesaran 1000x Terlihat Berbentuk Kokus Gram Positif	9
Gambar 2.2 <i>Eucheuma cottonii</i>	17
Gambar 2.3 Struktur Flavonoid.....	19
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	26
Gambar 4.1 Skema Prosedur Penelitian	39
Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopik Bakteri MRSA pada Tiap Isolat.....	42
Gambar 5.2 Tes Katalase	42
Gambar 5.3 Tes Koagulase	42
Gambar 5.4 Uji Kepekaan Antibiotik Cefoxitin	43
Gambar 5.5 Hasil Metode Dilusi Agar pada MRSA dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Alga Merah (<i>Eucheuma cottonii</i>) pada Medium <i>Mueller Hinton Agar</i>	45
Gambar 5.6 Pertumbuhan MRSA pada tiap Konsentrasi Ekstrak Alga Merah	47



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Penelitian Pendahuluan	62
Lampiran 2. Alat dan Bahan	63
Lampiran 3. Surat Keterangan Alga Merah	65
Lampiran 4. Surat Keterangan Uji Fitokimia	66
Lampiran 5. Uji Normalitas	68
Lampiran 6. Uji Kruskal Wallis	69
Lampiran 7. Uji Mann-Whitney	70
Lampiran 8. Uji Korelasi Spearman	81



DAFTAR SINGKATAN

CFU	: <i>Coloni Forming Unit</i>
CFU/ml	: <i>Coloni Forming Unit/mililiter</i>
CLSI	: <i>Clinical and Laboratory Standard Institute</i>
KBM	: <i>Kadar Bunuh Minimum</i>
KHM	: <i>Kadar Hambat Minimum</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
SPSS	: <i>Statistical Product of Service Solution</i>
MRSA	: <i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
MDROs	: <i>Multidrug Resistance Organisms</i>
NAP	: <i>Nutrient Agar Plate</i>
HA-MRSA	: <i>Health care-associated MRSA</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
Fab	: <i>Fragment antigen-binding</i>
Fc	: <i>Fragment crystallizable</i>

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ALGA MERAH (*Eucheuma cottonii*) TERHADAP *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

Oleh:

Adhita Putri Aulia

NIM. 155070100111047

Telah diuji pada

Hari: Jumat

Tanggal: 18 Januari 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

dr. Safitri Dwicahyani, M.P.H.

NIP. 198008152009122003

Pembimbing-I/Penguji-II,

Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt.

NIP. 195408281981032001

Pembimbing-II/Penguji-III,

dr. Dhany Prafita Ekasari, Sp.KK

NIP.198506152018032001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kedokteran

dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001



ABSTRAK

Aulia, Adhita Puteri. 2019. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* secara *In Vitro***. Tugas Akhir. Progam Studi S1 Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt. (2) dr. Dhany Prafitia Ekasari, Sp. KK

Salah satu penyebab infeksi yang menjadi masalah kesehatan masyarakat dunia dan menyebabkan peningkatan morbiditas dan mortalitas paling sering adalah infeksi karena bakteri yang salah satunya karena bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Terapi dari infeksi MRSA adalah dengan pemberian antibiotik, tetapi saat ini mengalami banyak resistensi pada antibiotik, hanya vankomisin yang tidak resisten. Maka dari itu perlu terapi alternatif dari bahan alam yaitu alga merah (*Eucheuma cottonii*). Alga merah memiliki kandungan triterpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu sintesis protein bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak alga merah terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* dengan menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium melalui uji potensi antimikroba metode dilusi agar. Konsentrasi ekstrak alga merah yang digunakan adalah 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, dan 18% dengan empat kali pengulangan. Analisis statistik menggunakan Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak alga merah terhadap pertumbuhan bakteri MRSA ($p = 0,000$). Uji Korelasi Spearman menunjukkan nilai $r = -0,896$, mengartikan adanya hubungan sangat kuat antara peningkatan ekstrak konsentrasi alga merah dengan penurunan jumlah koloni bakteri MRSA. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak alga merah memiliki efek antibakteri terhadap MRSA dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 15%.

Kata kunci : *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, alga merah (*Eucheuma cottonii*), antibakteri.

ABSTRACT

Aulia, Adhita Puteri. 2019. **Antibacterial Activity Test of Red Alga Extract (*Eucheuma cottonii*) towards Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* through In Vitro Application.** Final Assignment. Study Program Bachelor in Medicine, Faculty of Medicine, University Brawijaya. Supervisors: (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt. (2) dr. Dhany Prafita Ekasari, Sp.KK

One of the causes of infection which is a public health problem in the world and causes an increase in morbidity and mortality is most often an infection due to bacteria, one of which is due to the bacteria *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Therapy of MRSA infection is by giving antibiotic, but currently experiencing a lot of resistance to antibiotics, only vancomycin is not resistant. Therefore it is necessary for alternative therapies from natural ingredients, namely red algae (*Eucheuma cottonii*). Red algae has triterpenoid content which can inhibit bacterial growth by interfering with bacterial protein synthesis. The purpose of this study was to determine the antibacterial effect of red algae extract on *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* by using a laboratory experimental research design through a test of the potential antimicrobial dilution method. The concentration of red algae extract used was 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, and 18% with four repetitions. Statistical analysis using Kruskal Wallis showed a significant difference in changes in the concentration of red algae extract to the growth of MRSA bacteria ($p = 0.000$). The Spearman Correlation Test showed a value of $r = -0.896$, interpreting a very strong relationship between an increase in the concentration of red algae extract and a decrease in the number of colonies of MRSA bacteria. Based on the results of the study, it can be concluded that the red algae extract has an antibacterial effect on MRSA with a Minimum Inhibition concentration (MIC) of 15%.

Keyword: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, red algae (*Eucheuma cottonii*), antibacterial

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu penyebab utama kematian dan terjadinya keadaan sakit di fasilitas kesehatan adalah infeksi dan apabila gejala baru muncul selama dirawat atau selesai dirawat disebut infeksi nosokomial. Infeksi nosokomial terjadi karena adanya transmisi mikroorganisme atau bakteri patogen dari lingkungan rumah sakit dan menyebabkan sakit (Kurniawati dkk., 2015). Penyebab infeksi yang paling sering adalah infeksi karena bakteri, sehingga perlu terapi antibiotik sebagai pilihan utama mengobati infeksi. Namun penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan indikasi ditemukan sebanyak 30%-80% di Indonesia menurut Kemenkes (2015). Sehingga timbul berbagai macam *Multidrug Resistance Organisms* (MDROs) yang salah satunya *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Kurniawati dkk., 2015).

MRSA sering menyebabkan infeksi di fasilitas kesehatan maupun di komunitas. Di fasilitas kesehatan, infeksi yang dilaporkan karena MRSA yaitu syok septik (56%), pneumonia (32%), endokarditis (19%), bakterimia (10%), dan selulitis (6%) yang ada di unit gawat darurat (UGD), klinik pelayanan primer dan ICU. Sementara infeksi di komunitas pada seseorang yang karier dan tidak bergejala (Green *et al.*, 2012).

MRSA adalah strain dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang berbentuk kokus bergerombol seperti buah anggur dan Gram positif. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab utama infeksi di fasilitas rumah sakit dan komunitas, dan menunjukkan adanya peningkatan resistensi pada obat-obat antimikroba multipel. Berkembangnya resistensi obat multipel disebabkan adanya glikopeptida pada

Staphylococcus aureus yang sulit untuk diterapi dan sudah lama menjadi masalah kesehatan di dunia (Chen *et al.*, 2014).

MRSA menjadi masalah kesehatan masyarakat dunia yang menyebabkan peningkatan morbiditas dan mortalitas, serta biaya perawatan rumah sakit yang meningkat. Di Amerika prevalensi MRSA dari tahun 1996 sampai 2000 meningkat pada pasien rawat jalan 17,3%-28,6% dan pada pasien rawat inap 30,1%-45,7%. Sementara pada tahun 2005 infeksi MRSA sebanyak 94.360 dan menyebabkan kematian sebanyak 18.000 per tahunnya (Green *et al.*, 2012). Di Asia, Negara Pakistan juga meningkat dari 23% pada tahun 1999 menjadi 38% pada tahun 2001 dan meningkat lagi 43% tahun 2005. Sementara di Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo Indonesia, bagian Laboratorium Mikrobiologi pada tahun 2008 dilaporkan isolat MRSA 35,75%. Kemudian tahun 2009 turun menjadi 28,50% dan meningkat lagi pada periode Januari-Desember 2010 didapatkan 32% dari 225 isolat *Staphylococcus aureus*, dengan 72 isolat tersebut MRSA yang diambil dari 50 pasien dengan rincian 15 pasien perempuan dan 35 pasien laki-laki. Kasus dari isolat MRSA yang terbanyak yaitu dari ilmu penyakit dalam (IPD), terdiri dari pasien ulkus diabetes mellitus, sindroma imunodefisiensi didapat, TB paru, pasien *community-acquired pneumonia*, dan *hospital-acquired pneumonia*. Kasus terbesar kedua yakni bedah, ditemukan pada pasien post-operasi. Kemudian diikuti kasus keganasan dan luka bakar (Liana, 2014).

Menurut Abdel-Maksoud *et al.* (2016) resistensi bakteri MRSA di fasilitas kesehatan terjadi pada antibiotik ampisilin (100%), penisilin (100%), tetrasiklin (84,5%) gentamisin (80,7%), siprofloksasin (70,5%), eritromisin (64,4%), klindamisin (55,6%), rifampisin dan trimethoprim-sulfametoksazol masing-masing memiliki resistensi rendah sebesar 20,4% dan 17,2%, dan bakteri tersebut tidak

mengalami resistensi pada *vancomisin*. Sementara pada infeksi bakteri MRSA di komunitas terhadap ampisilin dan penisilin 100% mengalami resistensi, tetrasiklin (85,7%), eritromisin (19%), rifampisin (14,2%), gentamisin dan siprofloksasin (9,5%), dan bakteri tersebut tidak mengalami resistensi pada klindamisin serta *vancomisin*.

Metode pengobatan alternatif dibutuhkan dalam pengendalian bakteri MRSA untuk mengurangi dampak resistensi dari bakteri ini. Salah satu pengobatan alternatif yang dapat digunakan adalah pemanfaatan bahan alam. Bahan alam yang tersedia di Indonesia sangat banyak, mulai dari daratan dan di daerah perairan. Perairan Indonesia sendiri kaya akan hasil laut, salah satu unggulan yang tersebar hampir di seluruh Indonesia yaitu rumput laut (Maharany dkk., 2017).

Salah satu jenis rumput laut yang dapat dimanfaatkan adalah jenis alga merah (*Eucheuma cottonii*). Rumput laut jenis ini sangat mudah untuk diperoleh karena Indonesia merupakan produsen terbesar rumput laut di dunia, khususnya jenis *Eucheuma cottonii*. Produksi rumput laut Indonesia jenis *Eucheuma cottonii* pada tahun 2013 menempati urutan pertama dunia sebanyak 8,3 juta ton (Prahadi, 2015) dan meningkat pada tahun 2014 menjadi 10,2 juta ton (Maharany dkk., 2017). Pada tahun 2017, harga rumput laut *Eucheuma cottonii* yang basah dijual dengan harga Rp 14.500 per kilogram (Rusman, 2017). Maka dari itu bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif yaitu alga merah (*Eucheuma cottonii*).

Alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki keunggulan daripada ekstrak tanaman lain, yakni alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki kandungan senyawa aktif lebih banyak antara lain: fenol (flavonoid) (Sartika dkk., 2013), flavonoid,

steroid, alkaloid, dan triterpenoid (Andriani dkk., 2015). Sedangkan ekstrak daun tutup bumi dan buah delima yang telah diujikan pada Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), masing-masing memiliki senyawa aktif saponin dan triterpenoid (Sari dan Nursanty, 2017), dan asam elagik, asam galat, serta punikalagin (Hardana dan Warganegara, 2015).

Senyawa flavonoid pada alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antivirus, antijamur, dan sitostatik (Siregar dkk., 2012). Selain itu menurut Andriani dkk. (2015) kandungan metabolit sekundernya yakni flavonoid, steroid, alkaloid, dan triterpenoid yang ke empat senyawa tersebut berpotensi sebagai antibakteri. Soelama dkk. (2015) menyatakan bahwa ekstrak *Eucheuma cottonii* terhadap *Streptococcus mutans* memiliki efek antibakteri dengan cara dihambat pertumbuhannya, tetapi tidak bisa membunuh bakterinya. Sementara menurut Sartika dkk. (2013) penggunaan ekstrak *Eucheuma cottonii* memiliki efek antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella Typhi* dengan cara pertumbuhannya dihambat dan adanya perbesaran diameter pada uji cakram. Menurut Prajitno (2008), senyawa flavonoid dari *Eucheuma cottonii* menghambat pertumbuhan pada bakteri *Vibrio harveyi*.

Berdasarkan hasil penelitian di atas yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari *Eucheuma cottonii* terhadap beberapa jenis bakteri, namun belum ada aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Harapannya dari penelitian ini ekstrak *Eucheuma cottonii* dapat memiliki efek antibakteri pada bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)?

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki efek antibakteri terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Menganalisis hubungan antara konsentrasi ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dan pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
- 2) Menentukan nilai kadar hambat minimum (KHM) dari ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) pada *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Sebagai tambahan ilmu terkini dan dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya mengenai ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri.

1.4.2. Manfaat Praktis

- 1) Sebagai terapi alternatif antibakteri untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
- 2) Menyediakan alternatif obat yang relatif efisien dan mudah didapatkan masyarakat.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Rosenbach (1884) yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.1.2 Epidemiologi

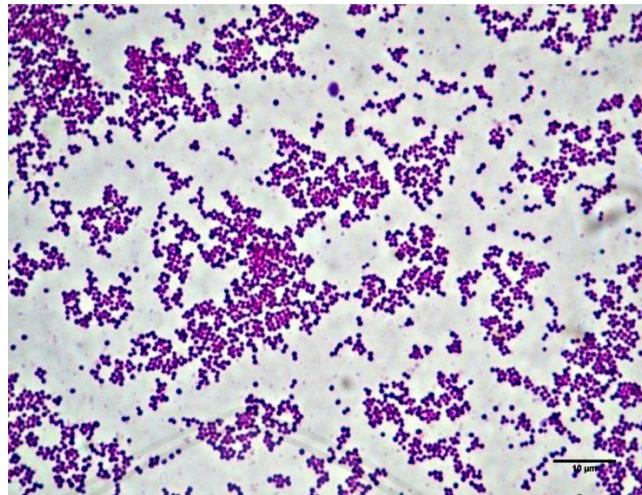
Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) diketahui sebagai patogen nosokomial utama di fasilitas kesehatan dan di komunitas. Kasus pertama dilaporkan pada tahun 1961. Sejak saat itu kejadian infeksi oleh MRSA di dunia meningkat dan menyebabkan peningkatan mortalitas dan morbiditas (Datta *et al.*, 2011). Kasus infeksi MRSA di Eropa sebesar 44% pada tahun 2008, di Australia, Afrika utara, *The Middle East*, dan Asia Timur kejadian HA-MRSA prevalensinya meningkat. Sementara telah dilaporkan sebesar 25% atau lebih dari isolat *S. aureus* di Bulgaria, Kroasia, Siprus, Yunani, Israel, Italia, Malta, Portugal, Irlandia, Rumania, Spanyol, Turki, dan UK (Green *et al.*, 2012). Asia merupakan daerah yang memiliki prevalensi yang tinggi adanya infeksi MRSA di dunia. Semua rumah

sakit yang ada di Asia merupakan endemik MRSA, dengan estimasi dari 28% di Hongkong dan Indonesia, sampai > 70% di Korea pada tahun 2010 (Chen *et al.*, 2014). MRSA adalah strain dari *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *isoxazolyl penicillin* seperti *methicillin*, *oxacillin*, dan *flucloxacillin*. Selain itu, mengalami resisten silang terhadap semua antibiotik golongan beta laktam (Liana, 2014).

Pada awalnya terapi untuk infeksi berat *Staphylococcus aureus* diberikan antibiotik penisillin, namun *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim *penicillinase* yang dikenal sebagai β -laktamase, sehingga menyebabkan kegagalan dalam pengobatan. Pada tahun 1950, ditemukan jenis penicillin semi sintetik yang tahan terhadap enzim β -laktamase, yaitu *methicillin* dan mulai dapat digunakan pada tahun 1959. Satu tahun berikutnya, terjadi kegagalan terapi dari *methicillin* (Liana, 2014).

2.1.3 Morfologi dan Identifikasi

Staphylococcus aureus merupakan Gram positif berbentuk kokus dengan diameter 0,5-1,5 μm bergerombol berbentuk seperti buah anggur, tidak memiliki spora, tidak motil, dan bersifat aerob atau fakultatif aerob. Pada tes katalase positif dan dapat hidup di lingkungan yang mengandung garam tinggi atau halofilik. *Staphylococcus aureus* memiliki lebih dari 200 strain (Green *et al.*, 2012). Pada sebagian besar bakteri *Staphylococcus aureus* dinding selnya mengandung protein A. Protein A mempunyai berat molekul sekitar 13.000 Dalton berikatan dengan peptidoglikan secara kovalen (Brooks dkk., 2005).



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* secara Makroskopis dengan Perbesaran 1000x Terlihat Berbentuk Kokus Gram Positif (Ghani, 2016)

2.1.4 Toksin

Staphylococcus aureus menghasilkan bahan metabolit yang diklasifikasikan dalam 3 bentuk yaitu metabolit non-toksin, eksotoksin, enterotoksin. Metabolit non toksin meliputi:

- Antigen permukaan (materi kapsul), berfungsi mencegah fagositosis, reaksi koagulase, dan melekatnya bakteriofaga.
- Koagulase yakni suatu protein yang bersifat sebagai *clotting agent*, proteolitik, dan esterolitik. Tes koagulase penting untuk menentukan patogenisitas bakteri. Pada umumnya *Staphylococcus aureus* memberikan hasil positif.
- Hialuronidase 93,6% dihasilkan bakteri dengan tes koagulase positif. Dengan adanya hialuronidase, bakteri bersifat invasif saat fase awal infeksi dan cepat netral pada reaksi peradangan.

- Stafilokinase (fibrinolisin) berfungsi sebagai aktivator enzim protease dalam plasma untuk menghasilkan *lytic agent* dan bersifat antigenik serta tidak tahan panas.
- Protease bersifat proteolitik dan dapat menyebabkan nekrosis jaringan yang diinvasi.
- Lipase bersifat antigenik.
- Fosfatase berhubungan dengan patogenisitas tapi nilainya kurang.
- DNase merupakan suatu protein yang terdiri atas rantai polipeptida tunggal di permukaan sel (Noorhamdani dkk., 2015).

Eksotoksin bersifat mematikan, tidak tahan panas, dan menyebabkan nekrosis lapisan dermis. Terdapat 4 toksin yaitu toksin alfa, toksin beta, toksin delta, dan Panton-Valentin. Enterotoksin merupakan protein dengan berat molekul 35.000 Dalton, tahan panas selama 30 menit dan sering menjadi penyebab keracunan makanan. Jika kadar enterotoksin lebih 25 μg akan menyebabkan muntah dan diare. Selain itu juga mengeluarkan toksin epidermolitik dan *toxic shock syndrome toxin* (Noorhamdani dkk., 2015).

2.1.5 Pemiakan

Pemiakan bakteri *Staphylococcus aureus* perlu suhu antara 28-38°C dan pH 7,4. Bakteri ini dapat tumbuh pada medium *Nutrient Agar Plate* (NAP) dengan membentuk pigmen berwarna kuning emas, koloni berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks, dengan tepi rata permukaan mengkilat dan konsistensi lunak. Selain itu dengan *Blood Agar Plate* (BAP) dengan membentuk koloni lebih besar, memberikan zona hemolisa yang jernih di sekitar koloni yang mirip dengan koloni *streptococcus β -hemolyticus* (Brooks dkk., 2005).

2.1.6 Karakteristik Pertumbuhan

Menurut Brooks dkk. (2005) Stafilococcus menghasilkan katalase, yang membedakan dengan streptokokus. Stafilococcus memfermentasikan karbohidrat, menghasilkan asam laktat, dan tidak menghasilkan gas. Bakteri ini tahan terhadap kondisi kering, panas dengan suhu 50°C selama 30 menit dan natrium klorida 9%, tetapi dapat dihambat oleh heksaklorofen 3%. Stafilococcus memiliki sensitifitas terhadap beberapa antibiotik. Resistensinya dibagi menjadi beberapa golongan, yakni:

1. Menghasilkan enzim beta-laktamase, dibawah kontrol oleh plasmid, sehingga terjadi resistensi pada penisilin (penisilin G, ampicilin, tikarsilin, dan piperasillin). Plasmid ditransmisikan dengan tranduksi dan konjugasi.
2. Resistensi nafsilin (metisilin dan oksasilin) yang tidak tergantung pada produksi beta-laktamase. Mekanisme resistensi berkurangnya penicillin binding protein dalam organisme.
3. Galur *Staphylococcus aureus* memiliki tingkat kerentanan menengah terhadap vankomisin dengan kadar hambat minimum 4-8 mg/mL yang telah diisolasi di Jepang. Mekanisme resistensi dengan peningkatan sintesis dinding sel dan perubahan dalam dinding sel.
4. Plasmid membawa gen untuk resistensi terhadap tetrasiklin, eritromisin, aminoglikosida, dan obat-obat lainnya.
5. Memiliki sifat toleran yang dapat dihubungkan dengan kurangnya aktivasi enzim autolitik di dalam sel.

2.1.7 Struktur Antigen

Struktur dinding sel stafilokokus memiliki antigen polisakarida dan protein. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang bergabung memberikan eksoskeleton kaku dari dinding sel. Peptidoglikan dapat rusak dengan asam kuat atau paparan terhadap lisozim, yang nantinya akan berpengaruh terhadap proses patogenesis infeksi. Asam teikoat merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, diikat ke peptidoglikan dan dapat menjadi antigenik. Protein A merupakan komponen dinding sel kebanyakan galur *Staphylococcus aureus* yang bisa mengikat ke bagian Fc molekul IgG, namun fragmen Fab tetap bisa bebas berikatan dengan antigen spesifik. Beberapa galur *Staphylococcus aureus* memiliki kapsul yang menghambat fagositosis oleh leukosit kecuali terdapat antibodi spesifik. Selain itu mempunyai koagulasi atau faktor penggumpalan pada permukaan dinding sel, sehingga ikatan koagulasi secara non enzimatis pada fibrinogen menyebabkan agregasi pada bakteri. Kegunaan tes serologi memiliki keterbatasan untuk stafilokokus (Brooks dkk., 2005).

2.1.8 Manifestasi Klinis

Infeksi *Staphylococcus aureus* bisa menyerang seluruh bagian tubuh dan muncul tanda klinis tergantung bagian yang terinfeksi. Jika infeksi lokal berupa jerawat, infeksi folikel rambut atau abses. Infeksi karena terkontaminasi langsung dari luka misalnya pasca operasi terjadi infeksi atau infeksi yang menyertai trauma, contohnya osteomyelitis kronik setelah patah tulang terbuka. Jika infeksi menyebar dan terjadi bakterimia, akan menjadi endocarditis, osteomyelitis hematogenous akut, meningitis, dan infeksi paru-paru. Jika bakteri

Staphylococcus aureus mengeluarkan enterotoksin ditandai dengan adanya mual, muntah, dan diare. Selain itu juga menyebabkan sindroma syok toksik dengan manifestasi onset dan demam tinggi tiba-tiba, muntah diare, myalgia, ruam bentuk *scarlet*, dan hipotensi dengan gagal jantung dan ginjal yang berat (Noorhamdani dkk., 2015).

2.1.9 Tes Diagnostik

Spesimen diambil dari usapan permukaan, pus, darah, aspirat trakea, cairan spinal, atau sesuai tempat infeksi. Spesimen ditanam di agar darah menunjukkan koloni yang khas dalam waktu 18 jam pada suhu 37°C tetapi hemolisis dan produksi pigmen terjadi beberapa hari kemudian. *Staphylococcus aureus* dapat menfermentasikan manitol dengan menggunakan *mannitol salt agar*. Dilakukan uji katalase dengan ditetesi hidrogen peroksida pada gelas objek dan bakteri yang sudah ditumbuhkan diletakkan di larutan tersebut, terbentuk gelembung maka hasilnya positif. Tes koagulasi jika terjadi gumpalan hasilnya positif. Uji kepekaan dilakukan dengan mikrodilusi atau difusi cakram dengan hasil *Staphylococcus aureus* terjadi resistensi pada penisilin-G karena sebagian besar menghasilkan β -lactamase dan resistan pada nafsilin, oksasilin, dan metisilin (Noorhamdani dkk., 2015).

Langkah pertama dalam mengkonfirmasi MRSA dengan mengisolasi *Staphylococcus aureus* dari kultur darah, jaringan, atau nanah. Jika *Staphylococcus aureus* terdeteksi dalam kultur, kemudian dilakukan konfirmasi pengujian untuk menunjukkan jika organisme resisten terhadap antibiotik atau tidak. Kultur dilakukan ketika gagal merespon pengobatan dengan diinsisi dan drainase atau jika pengobatan lini pertama MRSA dan streptococcus terus

menunjukkan resisten. Dilakukan kultur juga ketika dilaporkan adanya infeksi klaster, ketika infeksi lokal yang parah, atau ketika ada infeksi sistemik (Green *et al.*, 2012).

2.1.10 Terapi

Pilihan terapi untuk MRSA yaitu dengan insisi dan didrainasi, pemberian antibiotik oral dan parenteral, dan terapi topikal. Obat antibiotik untuk mengobati MRSA hanya sedikit, karena banyak resistensi. Hanya obat antibiotik glikopeptida *vancomisin* yang efektif membunuh bakteri MRSA. Namun karena penggunaan yang meningkat pada tahun 2002 di US dilaporkan adanya resistensi *vancomisin*, sering disebut *Vancomisin-resistant Staphylococcus aureus* (VRSA). Tetapi strain ini jarang dan hanya ada bukti yang sedikit meningkatnya resistensi tersebut. Selain itu, ada klindamisin sebagai pilihan obat oral untuk MRSA, karena mampu menghambat produksi toksin dan dapat mengobati pasien dengan syok toksik atau komplikasi karena toksin (Kong *et al.*, 2016).

Terapi untuk infeksi MRSA tergantung pada tipe infeksi, lokasi, dan derajat keparahan. Ketika diduga terkena infeksi MRSA, segera dirujuk untuk mendapatkan perawatan medis yang sesuai. Pasien harus mencegah penularan infeksinya dan tidak mengkompres basah. Untuk abses pada kulit, terapi pilihannya yaitu dilakukan insisi dan drainasi. Jika terjadi selulitis perlu ditambahkan antibiotik. Pilihan antibiotik biasanya dimulai dengan *trimethoprim-sulfamethoxazole* atau untuk pasien yang alergi terhadap sulfa, diberikan *doxycycline* atau *minocycline*. Tambahan untuk *Staphylococcus aureus* dan *streptococci* yang rentan dengan *methicillin* biasanya diberikan *cephalexin*, *dicloxacillin*, atau *clindamycin*. Infeksi MRSA yang gagal pengobatan awal

repository.ub.ac.id

mungkin memerlukan terapi multi-obat, seperti kombinasi vankomisin dengan satu atau lebih antibiotik tambahan. Penggunaan antibiotik memiliki efek samping seperti diare, mual, nyeri abdomen, *rash*, gatal, demam, ikterus, *dyspnea*, *dysphagia*, dan sakit kepala (Green *et al.*, 2012).

2.1.11 Pencegahan

Pencegahan untuk infeksi MRSA yakni dengan meningkatkan higienitas, kebersihan lingkungan, dan perawatan luka yang baik dengan mengganti penutup luka secara regular untuk menghindari terjadinya infeksi. Namun, perlu juga untuk membatasi penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan kebutuhan, agar mencegah terjadinya resistensi (Kong *et al.*, 2016). Untuk tenaga medis perlu alat perlindungan diri seperti sarung tangan saat mengobati pasien terinfeksi MRSA dan juga menjaga kebersihan seperti cuci tangan (Green *et al.*, 2012).

2.2 *Eucheuma cottonii*

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi alga merah berdasarkan Doty (1987) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Class	: Rhodophyceae
Order	: Gigartinales
Family	: Solieriaceae
Genus	: <i>Eucheuma</i>
Species	: <i>Eucheuma cottonii</i>

2.2.2 Morfologi

Rumput laut dikelompokkan menjadi 4 kelas berdasarkan jenis kandungan pigmennya, yaitu: alga merah (*Rhodophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*), dan alga biru (*Cyanophyceae*) (Hanapi dkk., 2013). Alga merah atau divisi *Rhodophyta* merupakan kelompok alga yang memiliki berbagai bentuk dan variasi warna tergantung jenis-jenisnya. Ciri-ciri secara umum yaitu bentuk thallus ada yang silindris, pipih, dan lembaran. Warna thallus ada yang merah, pirang, coklat, dan hijau. Sistem percabangan thallus ada yang sederhana, kompleks, dan berselang-seling. Kandungannya berupa pigmen fotosintetik seperti karotin, xantofil, fikobilin, r-fikoeritrin, serta klorofil a dan b (Wiratmaja dkk., 2011). Salah satu jenis dari *Rhodophyta* yaitu *Euचेuma cottonii* (Gambar 2.2). Dalam identifikasi alga merah (*Euचेuma cottonii*) menurut Aslan (1998) dari karakteristik thallus dapat digunakan sebagai pengenalan jenis atau pengklasifikasian spesies alga merah. Pada *Euचेuma cottonii* memiliki thallus yang berbentuk silindris, permukaan licin, substansi thallus *cartilagineus* (seperti tulang rawan), percabangan tidak beraturan *dichotomous* (dua-dua terus menerus), memiliki benjolan-benjolan (*blunt nodule*) dan duri-duri (*spines*), serta berwarna merah, abu-abu, hijau kekuningan, dan hijau. Menurut Hanapi dkk. (2013) ciri-ciri rumput laut ini memiliki thallus bentuk silindris, keras, dan berdaging (Lampiran 2). Adanya perubahan warna dipengaruhi oleh faktor lingkungan, yaitu adanya proses adaptasi antara proporsi pigmen dengan kualitas pencahayaan. Alga merah bisa tumbuh baik di daerah pantai yang ada terumbu karang (*reef*). Sementara habitatnya adalah daerah yang memperoleh aliran air.



Gambar 2.2 *Eucheuma cottonii* (Stewart, 2016)

2.2.3 Ekologi

Indonesia kaya akan hasil alam salah satunya rumput laut. Sumber hayati seperti rumput laut banyak ada di Indonesia karena hampir 70% wilayahnya terdiri dari laut (Wresdiyati dkk., 2011). Rumput laut merupakan jenis tanaman tingkat rendah dalam golongan ganggang yang hidup di laut dan memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi. Untuk membudidayakan rumput laut, Indonesia membutuhkan wilayah seluas 1.110.900 ha, tapi saat ini masih memanfaatkan lahan seluas 222.180 ha (20% dari luas areal potensial) (Wijayanto dkk., 2011).

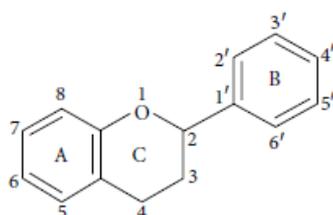
Alga merah banyak ditemui di Indonesia, salah satunya *Euchemma cottonii* (Wresdiyati dkk., 2011). *Euchemma cottonii* banyak dibudidayakan karena teknologi produksinya relatif murah dan penanganan panen relatif sederhana (Wijayanto dkk., 2011). Untuk membudidayakan *Euchemma cottonii* yakni perairan yang terlindung dari terpaan angin dan gelombang yang besar, kedalaman 7,65-9,72 m, salinitasi 33-35 ppt, suhu air laut 28-30°C, kecerahan 2,5-5,25 m, kecepatan arus 22-48 cm/detik, dan pH 6,5-7,0 (Wiratmaja dkk., 2011).

2.2.4 Kandungan

Eucheuma cottonii memiliki komposisi kimia air 76,15%, abu 5,62%, protein 2,32%, lemak 0,11%, dan karbohidrat 15,8%. Sementara senyawa aktifnya berupa flavonoid, fenol hidrokuinon, dan triterpenoid (Maharany dkk., 2017). Alga merah memiliki banyak manfaat yang sebelumnya sudah diteliti yaitu sebagai antibakteri, antivirus, antijamur, sitotastik (Siregar dkk., 2012), dan antioksidan (Lestario dkk., 2008). Menurut Sartika dkk., (2013), *Eucheuma cottonii* sebagai antibakteri karena adanya bahan aktif metabolit sekunder yang ada di dalam alga merah yaitu flavonoid. Selain itu menurut Andriani dkk. (2015) kandungan metabolit sekundernya yakni flavonoid, steroid, alkaloid, dan triterpenoid yang ke empat senyawa tersebut berpotensi sebagai antibakteri.

2.2.4.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur *benzo- γ -pyrone* dan banyak terdapat di semua jenis tanaman. Flavonoid disintesis di jalur fenilpropanoid. Flavonoid merupakan zat fenolik hidroksilasi dan disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba. Sifat kimia dari flavonoid tergantung pada struktur kelas, derajat hidroksilasi, substitusi, dan konjugasi lainnya, serta derajat polimerasi. Flavonoid ada di bagian nukleus dari sel mesofil dan pusat dari genarasi ROS (Kumar dan Abhay, 2013). Struktur kimia flavonoid terdiri dari 15 karbon C6-C3-C6 dengan 2 cincin aromatik A, B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mendandung oksigen. Bentuk bentuk cincin ini dijadikan untuk pembagian flavonoid dalam sub-sub kelompoknya yang nantinya berdasarkan posisi karbon disekitar molekulnya (Redha, 2010).



Gambar 2.3 Struktur Flavonoid (Kumar dan Abhay, 2013)

Kepentingan sebelumnya substansi ini distimulasi untuk manfaat kesehatan seperti efek dari aktivitas antioksidan untuk menangkap radikal bebas dan ion-ion metal. Selain itu, flavonoid memiliki kemampuan untuk menginduksi sistem enzim perlindungan tubuh. Beberapa penelitian sebelumnya efek flavonoid untuk perlindungan melawan infeksi oleh karena bakteri maupun virus, dan juga untuk penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskuler, kanker, dan penyakit lain yang berhubungan dengan usia lanjut (Kumar dan Abhay, 2013). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler untuk merusak membran sel dan juga keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk., 2009).

2.2.4.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang murni yang dikeluarkan oleh tanaman. Alkaloid memiliki ciri keragaman struktural yang hebat, asal mula atom nitrogen dasar menjadi satu-satunya fitur pemersatu. Kebanyakan alkaloid hanya memiliki satu atom nitrogen, namun beberapa di antaranya memiliki lima atom. Nitrogen ini dapat terjadi dalam bentuk amina primer (RNH_2), amina sekunder (R_2NH) atau amina tersier (R_3N). Selain karbon, hidrogen, dan nitrogen, kebanyakan alkaloid

mengandung oksigen. Alkaloid dapat terjadi sebagai monomer atau dapat membentuk dimer atau bisalkaloids, trimer, atau tetramer (Cushine *et al.*, 2014).

Dalam hal struktur kimia, ada dua divisi alkaloid yang luas: alga-loida heterosiklik atau alkaloid khas yang mengandung nitrogen pada heterosiklik; dan alkaloid non-heterosiklik atau alkaloid atipikal atau protoalkaloida yang mengandung rantai samping nitrogen. Alkaloid heterosiklik biasanya dikelompokkan berdasarkan struktur cincin. Sementara alkaloid non-heterosiklik berdasarkan asal biosintesis (Cushine *et al.*, 2014). Alkaloid memiliki mekanisme antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri, sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Darsana dkk., 2012).

2.2.4.3 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari satuan isopren dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C-30 asiklik, yang skualena, senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi, dan bersifat optis aktif. Senyawa triterpenoid dibagi menjadi empat golongan, yaitu: triterpen sebenarnya, saponin, steroid, dan glikosida jantung (Harborne, 1987). Triterpenoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri (Siregar dkk., 2012).

2.2.4.4 Steroid

Steroid merupakan salah satu golongan triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah

cincin siklopentana. Steroid dulu sering digunakan sebagai hormon kelamin, asam empedu, dan lain-lain. Tetapi akhir-akhir ini senyawa steroid banyak ditemukan di jaringan tumbuhan seperti sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne, 1987). Menurut Rosyidah dkk., (2010) steroid dan triterpenoid sama-sama memiliki kemampuan antibakteri dengan cara menghambat sintesis protein.

2.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri secara umum digunakan dalam pengobatan medis infeksi bakteri, yang memiliki prinsip toksisitas selektif. Hal ini menjelaskan bahwa obat ini berbahaya pada bakteri, tetapi tidak membahayakan pada inang (Brooks dkk., 2005). Antimikroba digolongkan berdasarkan kemampuan mematikan (bakteriosidal) dan menghambat pertumbuhan (bakteriostatika) (Noorhamdani dkk., 2015). Beberapa mekanisme kerja anti bakteri antara lain:

2.3.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang rigid, yaitu dinding sel. Fungsinya untuk mempertahankan bentuk dan sebagai pelindung, yang mempunyai tekanan osmotik yang tinggi. Dinding sel berisi peptidoglikan yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi. Semua obat golongan β -lactam menghambat sintesis dinding sel bakteri. Mekanisme kerjanya obat berikatan dengan reseptor pada dinding sel bakteri yang disebut PBP (*Penicillin Binding Protein*), menyebabkan hambatan pembentukan dinding sel pada proses transpeptidase. Transpeptidase merupakan proses *cross-linking* dari rantai peptida untuk pembentukan peptidoglikan. Golongan obatnya yaitu penisilin, sefalosporin, vankomisin, dan basitrasin (Noorhamdani dkk., 2015).

2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Plasma

Sitoplasma sel dibatasi oleh membran sitoplasma, yang fungsinya sebagai pelindung permeabilitas selektif, membawa fungsi transport aktif, dan mengontrol komposisi internal sel. Jika membran sel dirusak, makromolekul dan ion akan keluar, kemudian akan terjadi kematian sel. Obat-obatnya yakni polimiksin, amfoterisin β , kolistin, imidasol, triazol, dan polien (Brooks dkk., 2005).

2.3.3 Menghambat Sintesis Protein

Bakteri memiliki 70S ribosom, yang tersusun dari unit 50S dan 30S. Antibakteri yang bekerja pada unit 50S adalah kloramfenikol dengan cara menghambat perpanjangan rantai polipeptida. Serta eritromisin kerjanya mencegah perjalanan ribosom di sepanjang mRNA. Sementara bakteri yang bekerja pada unit 30S yaitu streptomisin dengan cara mengubah bentuk ribosom sehingga bentuk kodon juga berubah dan terjadi *misreading* oleh antikodon pada tRNA. Tetrasiklin juga bekerja pada unit 30S dengan cara mengganggu perlekatan tRNA pada kompleks mRNA-ribosom (Noorhamdani dkk., 2015).

2.3.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat

Antibakteri ini bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel. Obat yang termasuk golongan ini yaitu rifampisin, asam nalidiksat, kuinolon, sulfonamid, dan trimetoprim. Rifampisin bekerja dengan cara mengikat kuat enzim *DNA-dependant RNA polymerase*. Quinolon bekerja dengan cara mengganggu enzim *DNA-gyrase* yang berperan pada proses replikasi DNA (Noorhamdani dkk., 2015).

2.4 Metode Ekstrak Alga Merah

Maserasi merupakan proses perendaman sampel bahan yang bertujuan untuk menarik komponen yang dibutuhkan dengan kondisi dingin diskontinyu. Pada proses maserasi yakni menggunakan pelarut yang lebih sedikit, dan tidak memerlukan pemanasan, tetapi waktu yang dibutuhkan cukup lama (Putra dkk, 2014). Penggunaan pelarut sangat berpengaruh terhadap proses ekstraksi. Pemilihan pelarut dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor, antara lain seperti selektivitas dalam melarutkan semua zat yang akan diekstrak, titik didih pelarut, pelarut tidak larut air, bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen yang lain, harga pelarut yang terjangkau, dan pelarut mudah terbakar (Susanti dkk, 2012).

Menurut Andriani dkk., (2015) proses ekstraksi alga merah dengan menggunakan proses maserasi dan pelarut metanol, yang dapat mengeluarkan senyawa aktif dari alga merah (*Eucheuma cottonii*) antara lain flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Hal ini diperkuat dengan adanya hasil penelitian lain oleh Siregar dkk. (2015) yang menggunakan pelarut metanol dapat menghasilkan senyawa aktif dari ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) yakni alkaloid dan steroid. Sedangkan menurut Selvan *et al.* (2014) bahwa dengan penggunaan pelarut metanol dapat mengeluarkan senyawa aktif seperti flavonoid, steroid, alkaloid, dan fenol pada alga merah.

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian uji aktivitas antibakteri dapat menggunakan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Kadar hambat minimal merupakan konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil

biakan yang mulai jernih atau tidak ada pertumbuhan bakteri. Sedangkan kadar bunuh minimal merupakan konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri (Noorhamdani dkk., 2015).

2.5.1 Metode Dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik yaitu teknik dilusi agar dan teknik dilusi perbenihan cair. Teknik ini untuk menentukan aktivitas antimikroba secara kuantitatif yang dilarutkan dalam media agar maupun kaldu, yang kemudian ditanami bakteri.

2.5.1.1 Dilusi agar

Teknik dilusi agar yaitu antibiotik yang sesuai dengan pengenceran akan ditambahkan ke dalam agar. Kemudian diamati pertumbuhan bakteri jika konsentrasi terendah antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri merupakan KHM (Soleha, 2015). Menurut Wiegand *et al.* (2008) dilusi agar dilakukan dengan meneteskan bakteri di atas *nutrient agar* yang sudah ditambahkan dengan ekstrak atau antibiotik. Setelah diinkubasi, dapat dievaluasi ada pertumbuhah bakteri atau tidak. Jumlah inokulum bakteri yang direkomendasikan adalah 10^4 CFU/spot.

2.5.1.2 Dilusi tabung

Prinsip metode dilusi perbenihan cair adalah dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel bakteri yang akan diuji. Kemudian diisi dengan obat yang telah diencerkan pada tiap-tiap tabung.

Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati kekeruhan tabung (Noorhamdani dkk., 2015). Menurut Wiegand *et al.* (2008) jumlah inokulum bakteri yang direkomendasikan yaitu 5×10^5 CFU/mL.

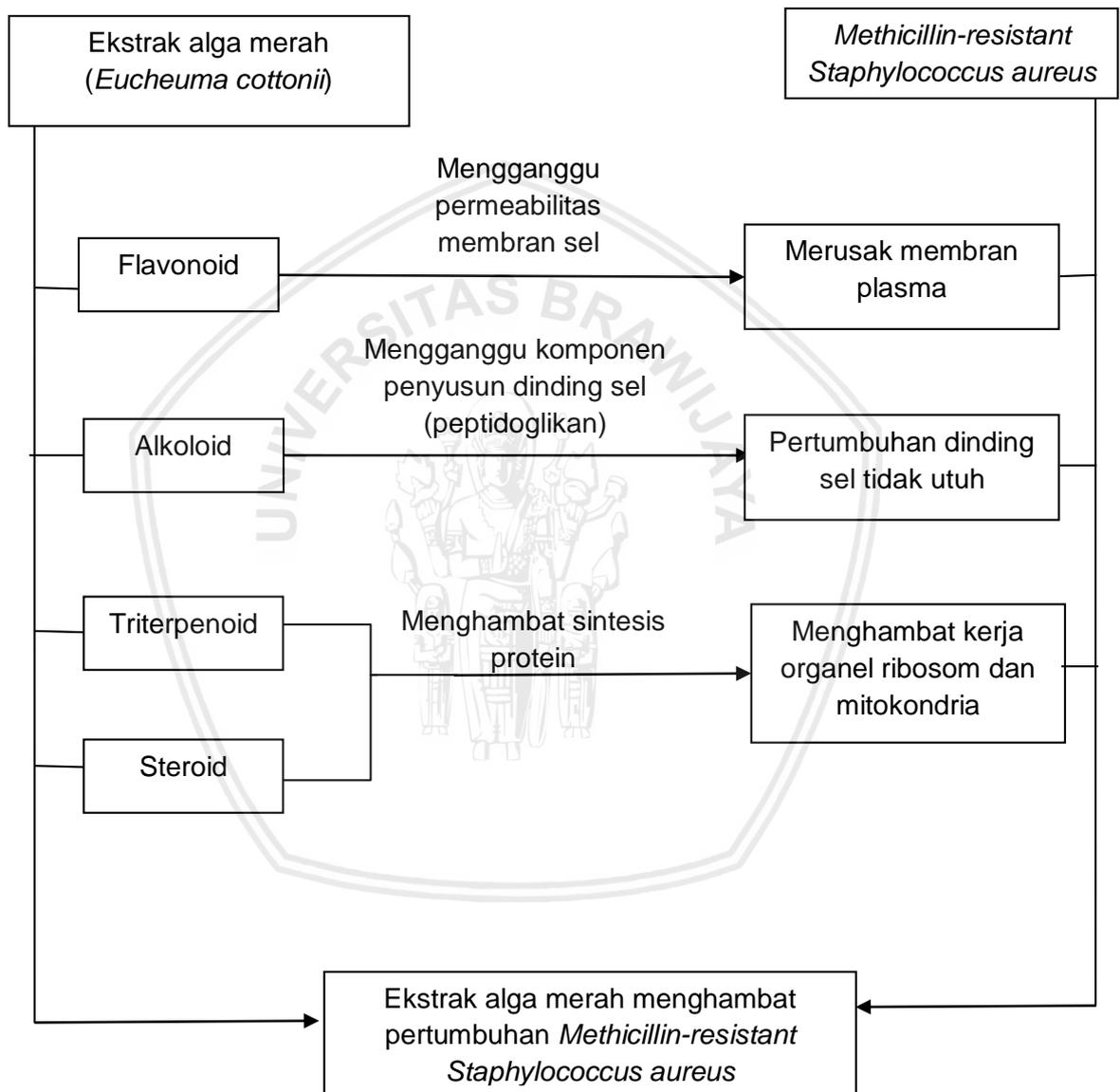
2.5.2 Metode Difusi

Prinsip metode difusi yaitu obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Kemudian cakram tersebut ditanam di media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, dan diinkubasi 37°C samapi 18-24 jam. Selanjutnya diamati area atau zona jernih di sekitar cakram kertas yang menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Untuk mengevaluasi hasil bakteri sensitif atau resisten ada 2 cara, yaitu cara *Kirby Bauer* dan *Joan-Stokes* (Noorhamdani dkk., 2015).

Cara *Kirby Bauer* dengan cara membandingkan diameter dari area jernih disekitar cakram dengan tabel standar CLSI (*Clinical And Laboratory Standart Insititute*) dengan tabel ini bisa diketahui sensitif, intermediet, dan resisten. Sementara cara *Joan-Stokes* dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat dengan isolat yang diuji (Noorhamdani dkk., 2015).

BAB 3
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

→ : mekanisme kerja

Alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki kandungan metabolit primer dan sekunder. Kandungan metabolit primer pada alga merah (*Eucheuma cottonii*) seperti serat, mineral, vitamin, alginat, karagenan (Siregar dkk., 2012). Sedangkan kandungan metabolit sekunder pada alga ini antara lain flavonoid, fenol hidrokuinon, dan triterpenoid (Maharany, 2017). Selain itu menurut Andriani dkk. (2015) kandungan metabolit sekundernya yakni flavonoid, steroid, alkaloid, dan triterpenoid yang ke empat senyawa tersebut berpotensi sebagai antibakteri. Hal ini juga diperkuat menurut Farouk *et al.*, (2007) bahwa senyawa alkaloid, steroid, dan triterpenoid memiliki sifat sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid juga berperan sebagai antibakteri (Kumar dan Abhay, 2013).

Mekanisme antibakteri flavonoid yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler untuk merusak membran sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Kumar dan Abhay, 2013). Alkaloid memiliki mekanisme antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri, sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Darsana dkk., 2012). Triterpenoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri (Rosyidah dkk., 2010). Dalam proses sintesis protein terjadi dalam ribosom, penghambatan sintesis protein menyebabkan terganggunya pembentukan asam amino sehingga mitokondria juga terhambat dalam membentuk energi maka sel bakteri tidak dapat tumbuh dan berkembang. Menurut Rosyidah dkk., (2010) steroid dan triterpenoid sama-sama memiliki kemampuan antibakteri dengan cara menghambat sintesis protein.

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian konsentrasi ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* dengan *post test only control group design*. Uji antimikroba dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM).

4.2 Pengulangan Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya yang diisolasi sesuai dengan prosedur standar.

Estimasi jumlah pengulangan dari penelitian ini dihitung berdasarkan rumus Loekito (1998) :

$$p(n-1) \geq 16$$

$$7(n-1) \geq 16$$

$$7n - 6 \geq 16$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

keterangan:

n = jumlah pengulangan yang akan dilakukan

p = jumlah kelompok sampel yaitu terdiri dari 7 konsentrasi

Berdasarkan penghitungan di atas didapatkan $n = 3,14$. Pada penelitian ini jumlah pengulangan sebanyak 4 sampel bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juli hingga Desember 2018.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dengan konsentrasi 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, dan 18%. Pemilihan dosis berdasarkan dari hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelum penelitian utama (Lampiran 1).

4.4.2 Variabel Tergantung (*Dependent Variable*)

Variabel tergantung dari penelitian ini yaitu tingkat pertumbuhan dari bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM).

4.5 Definisi Operasional

- a) Alga merah (*Eucheuma cottonii*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh di Pantai Jumiang, Dusun Jumiang, Desa Tanjung, Kecamatan Pademawu, Kabupaten Pamekasan, Provinsi Jawa Timur.
- b) Ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) diperoleh dari UPT Materia Medica Batu, Kota Batu, Provinsi Jawa Timur dengan bentuk cair dan

terdapat endapan, yang diambil semua bagian dari alga merah dengan menggunakan pelarut metanol melalui proses maserasi dan proses evaporasi untuk menghilangkan pelarut metanol.

- c) Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) berasal dari stok kultur yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Isolat MRSA adalah berasal dari swab hidung, swab tenggorok, pus, dan urin.
- d) Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan hasil penelitian pendahuluan. Oleh karena pertumbuhan bakteri tidak dapat dihitung, maka hasil penelitian dilakukan dengan pengamatan secara visual kualitatif dan dinyatakan dalam bentuk skoring yaitu 4, 3, 2, 1, dan 0. Adapun batasan skoring sebagai berikut:
- 4: koloni tumbuh tebal dan tidak dapat dihitung.
 - 3: koloni bakteri tumbuh agak tebal dan tidak dapat dihitung.
 - 2: koloni bakteri koloni bakteri tumbuh tipis dan tidak dapat dihitung.
 - 1: koloni bakteri tumbuh sangat tipis dan tidak dapat dihitung.
 - 0: tidak ada pertumbuhan koloni bakteri.
- e) Kadar Hambat Minimal (KHM) yaitu kadar terendah dari konsentrasi ekstrak alga merah (*Euclima cottonii*) yang mampu menghambat pertumbuhan Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Alga Merah (*Euclima cottonii*)

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu oven, mortar dan pestel, timbangan atau neraca, gelas erlenmeyer, corong gelas, kertas saring, labu

evaporator, labu penampung, dan *rotary evaporator vacum*. Bahan yang digunakan ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*), metanol, dan aquades.

4.6.2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

Alat yang digunakan untuk identifikasi bakteri adalah *ose*, *vortex*, *object glass*, korek api, pembakar bunsen, kertas penghisap, mikroskop, inkubator, tabung reaksi, dan *plate* kosong steril. Bahan untuk identifikasi bakteri MRSA adalah isolat bakteri MRSA, NAP, bahan pewarnaan Gram (Kristal Violet, lugol, alkohol 96%, dan Safranin), minyak emersi, *Staphaurex (Latex)*, H₂O₃ 3%, dan *cefoxitin*.

4.6.3 Alat dan Bahan Uji Dilusi Agar.

Alat-alat yang digunakan untuk uji dilusi agar yaitu *plate* kosong steril, *vortex*, *ose*, mikropipet steril ukuran 10 µL, pembakar bunsen, korek api, penggaris, spidol permanen, dan inkubator. Bahan yang digunakan yakni ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*), suspensi bakteri MRSA, dan *Muller Hilton Agar*.

4.7 Metode Pengumpulan Data

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

- a) Timbang serbuk alga merah sebanyak 1400 gram.
- b) Lakukan pembasahan serbuk dengan pelarut metanol sebanyak 1000 mL.
- c) Masukkan serbuk alga merah yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan sambil ditambahkan pelarut metanol sampai serbuk

terendam, total yang digunakan sebanyak 500 mL. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam. Dan dishaker di atas *shaker* digital dengan 50 rpm.

- d) Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam erlenmeyer.
- e) Ampas, dimasukkan lagi dalam toples dan tambahkan pelarut sampai terendam (minimal pelarut 5 cm di atas permukaan serbuk), dalam hal ini digunakan 500 mL.
- f) Biarkan semalam atau 24 jam dan dishaker.
- g) Remaserasi dilakukan sampai ekstrak lebih jernih.
- h) Hasil ekstrak cair pertama sampai akhir, dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan *rotatory evaporator*. Diperlukan waktu 2 jam untuk evaporasi.
- i) Hasil ekstrak dalam bentuk cair dan terdapat endapan, sebanyak 240 mL.

4.7.2 Identifikasi Bakteri Uji *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

Sebelum digunakan untuk penelitian, dilakukan terlebih dahulu pemurniaan bakteri dengan membiakkan bakteri isolat *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* pada NAP, kemudian diinkubasi di inkubator 18-24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dilakukan identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram, tes katalase, tes koagulase, dan tes kepekaan terhadap antibiotik *cefloxitin* (Brooks dkk., 2005).

4.7.2.1 Pewarnaan Gram

- a) Membuat sediaan (*slide*), dikeringkan di udara kemudian dilakukan fiksasi.
- b) Menuangkan Kristal Violet pada sediaan dan dibiarkan selama 1 menit.

- c) Membuang dan membilas sisa bahan pewarna dengan air.
- d) Menuangkan larutan lugol sebagai *mordant* dan biarkan selama 1 menit.
- e) Membuang dan membilas sisa lugol dengan air.
- f) Menuangkan alkohol 96% sebagai peluntur selama 5-10 detik.
- g) Membuang dan membilas sisa alkohol dengan air.
- h) Menuangkan Safranin sebagai warna pembanding selama 30 detik.
- i) Membuang dan membilas sisa Safranin dengan air.
- j) Mengeringkan sediaan dengan kertas penghisap, meneteskan minyak emersi dan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa obyektif pembesaran 97-100x.
- k) *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* akan terlihat berbentuk kokus dan gram positif berwarna ungu (Noorhamdani dkk., 2015).

4.7.2.2 Tes Katalase

- a) Mensterilkan gelas objek yang akan digunakan terlebih dahulu dengan menggunakan kapas dan dilewatkan di atas api Bunsen.
- b) Meletakkan suspensi bakteri yang akan diuji di atas gelas objek.
- c) Meneteskan H₂O₂ 3% sebanyak 1-2 tetes, tunggu hingga 5-10 detik.
- d) Hasil tes katalase positif, jika terdapat gelembung udara pada sediaan.
- e) Hasil tes katalase negatif, jika tidak terdapat gelembung udara pada sediaan.
- f) Tes katalase digunakan untuk membedakan bakteri kokus gram positif. Hasil tes katalase positif menunjukkan bakteri *Staphylococcus*, sementara hasil tes katalase negatif menunjukkan bakteri *Streptococcus* dan *Enterococcus* (Noorhamdani dkk., 2015).

4.7.2.3 Tes Koagulase

- a) Mensterilkan gelas objek yang akan digunakan terlebih dahulu dengan menggunakan kapas dan dilewatkan di atas api Bunsen.
- b) Meneteskan larutan salin atau aquades steril ke gelas objek.
- c) Menambahkan koloni bakteri di gelas objek
- d) Meneteskan 1 tetes *Latex Staphylococcus aureus*
- e) Menggoyangkan gelas objek dengan arah melingkar selama 10 detik.
- f) Hasil tes koagulase positif didapatkan adanya gumpalan-gumpalan putih
- g) Hasil tes koagulase negatif tidak didapatkan adanya gumpalan-gumpalan putih.
- h) Tes koagulase dilakukan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya (Noorhamdani dkk., 2015).

4.7.2.4 Tes Kepekaan Bakteri terhadap Cefoxitin

Tes kepekaan dilakukan dengan difusi cakram menggunakan *cefoxitin*. Bakteri dikatakan resisten terhadap *methicillin* jika diameter zona hambat pada cakram *cefoxitin* $30\mu\text{g} \leq 21 \text{ mm}$ (Huse *et al.*, 2017).

4.7.3 Preparasi Uji Antibakteri

- a) Beberapa koloni bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* dari *Nutrient Agar Plate* (NAP) dipindahkan ke dalam tabung yang berisi *Muller Hinton* (MH) *Broth* menggunakan ose.
- b) Pembenuhan cair bakteri dari *Muller Hinton* (MH) *Broth* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

- c) Kemudian dinilai absorbansinya dengan spektrofotometer pada gelombang cahaya 625 nm untuk mengetahui *Optical Density* (OD) dari suspensi. Melalui nilai absorbansi dapat diperkirakan jumlah bakteri pada pembenihan cair dengan kalibrasi yang sudah diketahui yaitu absorbansi 0,1 ekuivalen dengan jumlah bakteri sebesar 10^8 CFU/ml. Dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan :

N1: Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V1: Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N2: OD = 0,1 setara dengan 10^8 CFU/ml

V2: volume suspensi bakteri uji yang sudah diencerkan

- d) Sehingga diperoleh volume bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 10 ml.
- e) Setelah diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml sebanyak 10 ml, selanjutnya dilakukan pengenceran dengan menggunakan NaCl sehingga konsentrasi bakteri menjadi 10^6 CFU/ml.
- f) 1 ml kultur dari konsentrasi bakteri 10^8 CFU/ml ditambahkan 9 ml NaCl untuk mendapatkan konsentrasi 10^7 CFU/ml.
- g) Proses pengenceran diulang kembali dengan menambahkan 1 ml kultur dari konsentrasi 10^7 CFU/ml ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan pengenceran akhir yang mengandung konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml.
- h) Konsentrasi bakteri 10^6 CFU/ml tersebut yang digunakan untuk penelitian (Murray *et al.*, 2007).

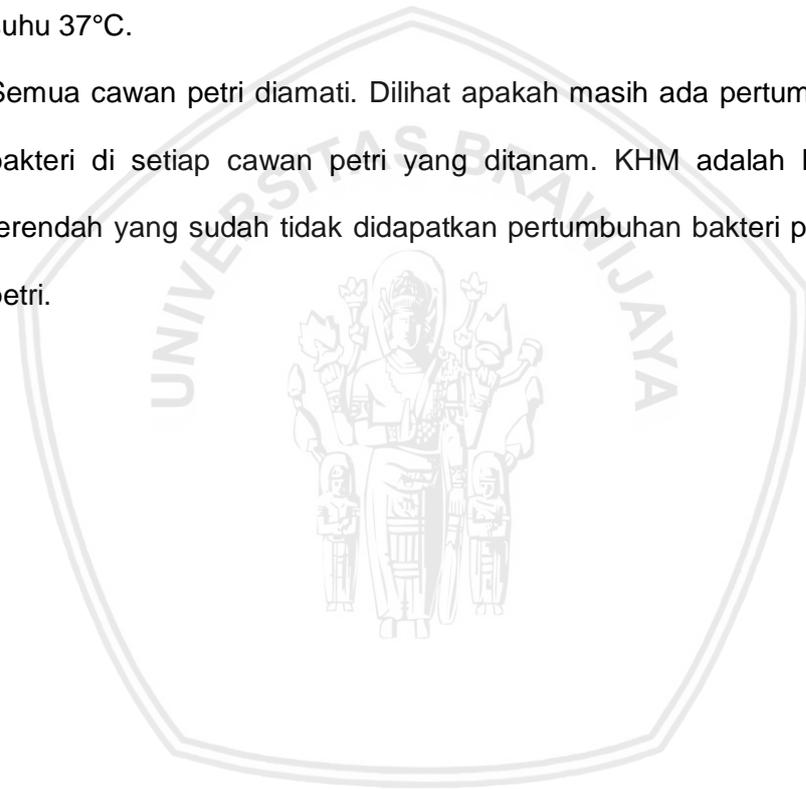
4.7.4 Uji Dilusi Agar

Pada penelitian ini menggunakan metode uji dilusi agar, karena ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) berwarna hijau tua kehitaman, bentuk cair, terdapat endapan, dan keruh, sehingga dapat berpengaruh terhadap visualisasi pengamatan apabila menggunakan metode uji dilusi tabung. Uji dilusi agar dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal (Soleha, 2015).

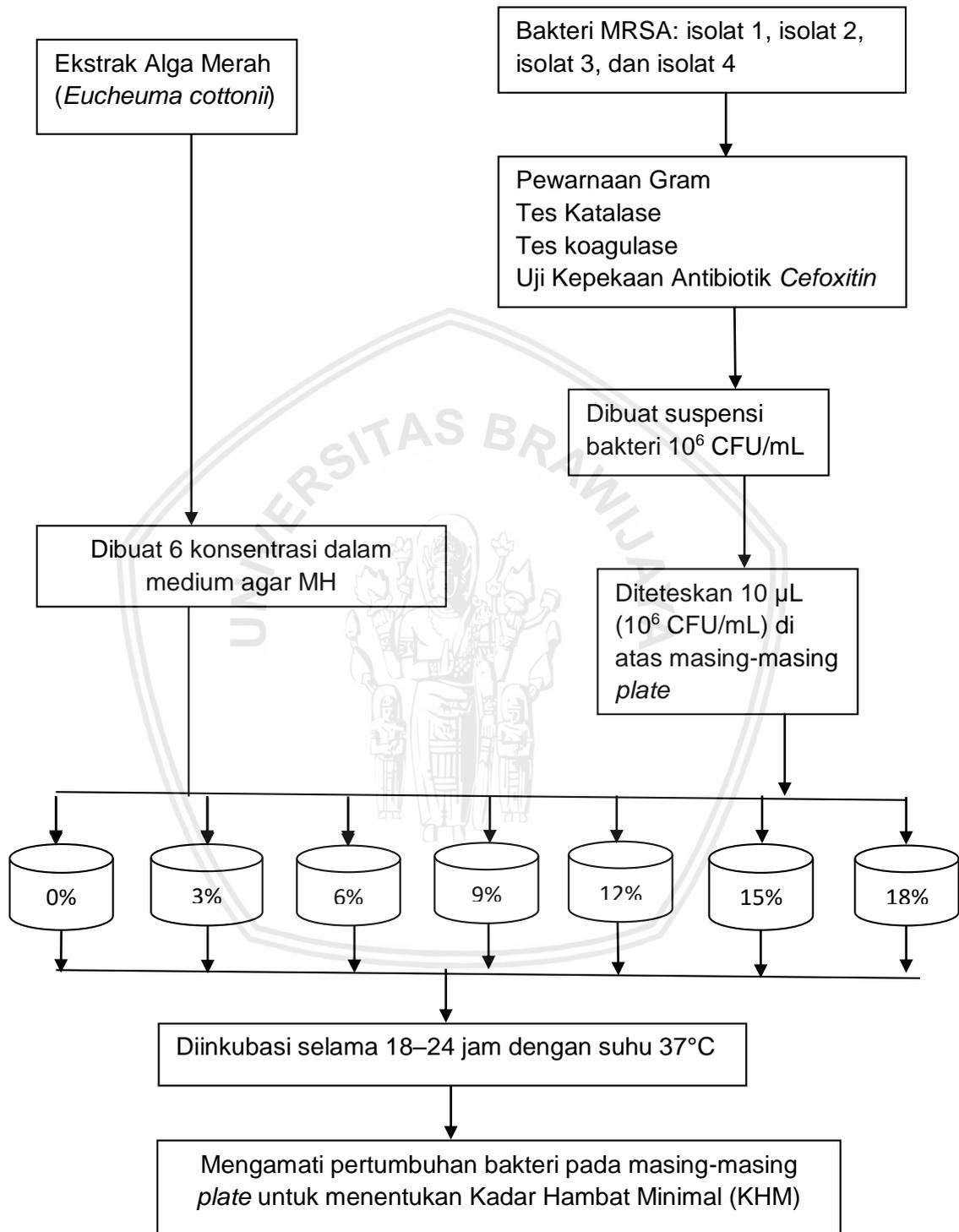
4.7.5 Uji Antibakteri Ekstrak Alga Merah

1. Penelitian menggunakan metode dilusi agar dengan menyediakan 7 cawan petri berdiameter 10 cm dan telah diberi label sesuai konsentrasinya. Masing-masing *plate* berisi ekstrak alga merah dengan konsentrasi 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, dan 18%, kemudian dicampur dengan MH Agar yang sebelumnya telah disterilisasi 120°C selama kurang lebih 15 menit dengan menggunakan *autoclaf*.
2. Volume total yang dipakai dalam setiap cawan petri (agar+ekstrak) adalah 15 ml, sehingga volume total yang dimasukkan ke dalam cawan petri adalah volume konsentrasi ekstrak ditambahkan dengan volume agar steril yang masih cair. Berikut rincian tiap konsentrasi dalam *plate*:
 - Konsentrasi 0%: tanpa ekstrak + 15 ml MH agar
 - Konsentrasi 3%: 0,45 ml ekstrak + 14,55 ml MH agar
 - Konsentrasi 6%: 0,9 ml ekstrak + 14,1 ml MH agar
 - Konsentrasi 9%: 1,35 ml ekstrak + 13,65 ml MH agar
 - Konsentrasi 12%: 1,8 ml ekstrak + 13,2 ml MH agar
 - Konsentrasi 15%: 2,25 ml ekstrak + 12,75 ml MH agar
 - Konsentrasi 18%: 2,7 ml ekstrak + 12,3 ml MH agar

3. Bakteri uji yang dipakai adalah bakteri sebesar 10^6 CFU/ml
4. Setiap cawan petri tersebut masing-masing dibagi menjadi empat bagian sama besar karena dalam penelitian ini menggunakan pengulangan ada 4 isolat MRSA yaitu isolat 1 (swab hidung), isolat 2 (swab tenggorok), isolat 3 (pus), dan isolat 4 (urin). Pada setiap bagian ditetesi bakteri uji sebanyak $10 \mu\text{L}$. Kemudian semua cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C .
5. Semua cawan petri diamati. Dilihat apakah masih ada pertumbuhan dari bakteri di setiap cawan petri yang ditanam. KHM adalah konsentrasi terendah yang sudah tidak didapatkan pertumbuhan bakteri pada cawan petri.



4.7.6 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 4.1 Skema Prosedur Penelitian

4.8 Analisis Data

Data penelitian diperoleh dengan mengamati hasil pertumbuhan koloni *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* pada *agar plate* yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam berupa data ordinal. Analisis yang digunakan adalah uji statistik Kruskal Wallis dan uji Mann Whitney untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak alga merah terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Selain itu dilakukan uji Korelasi Spearman untuk menentukan besarnya hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dengan pertumbuhan koloni bakteri MRSA. Dalam penelitian ini, tingkat kepercayaan yang dipakai adalah 95% ($\alpha = 0,05$).

Uji normalitas sebuah uji yang dilakukan dengan tujuan untuk menilai sebaran data pada sebuah kelompok data atau variabel, apakah sebaran data tersebut berdistribusi normal ataukah tidak (Hidayat, 2013). Uji Kruskal Wallis adalah salah satu peralatan statistika non-parametrik dalam kelompok prosedur untuk sampel independen. Prosedur ini digunakan untuk membandingkan dua variabel yang diukur dari sampel yang tidak sama (bebas), di mana kelompok yang diperbandingkan lebih dari dua (Junaidi, 2015). Uji Mann-Whitney difokuskan untuk membandingkan terhadap dua perlakuan atau dua penilaian (persepsi) yaitu apakah persepsi pada satu kelompok sampel bebas, sama persis atau tidak dengan persepsi yang terdapat pada satu kelompok sampel bebas lainnya (Artaya, 2018). Korelasi Spearman adalah ukuran erat-tidaknya kaitan antara dua variabel ordinal atau ukuran atas derajat hubungan antara data yang telah disusun menurut peringkat (Pradeka dkk., 2012).

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Penelitian ini menggunakan 4 sampel isolat bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari isolat swab hidung (isolat 1), isolat swab tenggorok (isolat 2), isolat pus (isolat 3), dan isolat urin (isolat 4) dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum penelitian dimulai, terlebih dahulu dilakukan identifikasi bakteri MRSA. Tes yang dilakukan untuk identifikasi bakteri MRSA yaitu dengan pewarnaan Gram, tes katalase, tes koagulase, dan tes kepekaan bakteri terhadap *cefoxitin*.

Pada uji pewarnaan Gram, didapatkan hasil pengamatan tiap isolat terdapat bakteri berbentuk kokus dan berwarna ungu atau Gram positif (Gambar 5.1). Tes katalase di mana koloni bakteri ditetesi H_2O_2 3%. Setelah ditetesi akan tampak adanya gelembung udara pada koloni bakteri (Gambar 5.2). Hal ini karena bakteri mengandung enzim katalase. Katalase akan memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga tampak gelembung udara (Gambar 5.2).



Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopik Bakteri MRSA pada Tiap Isolat
(pembesaran 1000x, berbentuk kokus Gram positif)



Gambar 5.2 Tes Katalase

(ada gelembung udara pada koloni bakteri), hasil ditunjukkan dengan panah

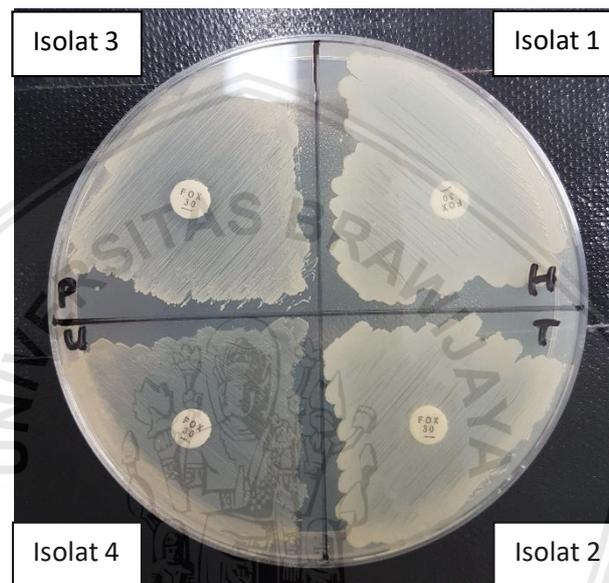
Tes koagulase dilakukan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus* lainnya seperti *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Dari tes koagulase didapatkan gumpalan-gumpalan putih pada sempel yang telah ditetesi *Latex Staphylococcus aureus* yang berarti menunjukkan positif *Staphylococcus aureus* (Gambar 5.3).



Gambar 5.3 Tes Koagulase

(ada gumpalan putih pada koloni bakteri), hasil ditunjukkan dengan panah

Untuk menunjukkan sampel bakteri adalah *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, dilakukan uji kepekaan antibiotik *cefoxitin* dengan menggunakan difusi cakram. Bakteri dikatakan resisten jika diameter zona hambat terhadap *cefoxitin* ≤ 21 mm. Pada penelitian ini zona hambatnya memiliki ukuran yang sama dengan kertas cakram yakni 6 mm (Gambar 5.4).



Gambar 5.4 Uji Kepekaan Antibiotik Cefoxitin
(tidak ada zona hambat)

Keterangan :

- Isolat 1 atau H: Swab hidung
- Isolat 2 atau T: Swab tenggorok
- Isolat 3 atau P: Pus
- Isolat 4 atau U: Urin

5.1.2 Hasil Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) dan Uji Fitokimia

Alga merah diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Hasil ekstraksi dalam bentuk cair dengan endapan dan berwarna hijau tua kehitaman sebanyak 240 mL. Pada penelitian ini mendapatkan surat Sertifikat determinasi *Eucheuma cottonii* dari pihak petani atau pembudidaya *Eucheuma cottonii* yang dapat dilihat di Lampiran 3. Hasil uji fitokimia kandungan dalam alga

merah yaitu kandungan triterpenoid positif. Kandungan alkaloid, flavonoid, dan steroid hasilnya negatif (Lampiran 4).

Tabel 5.1 Hasil Uji Fitokimia

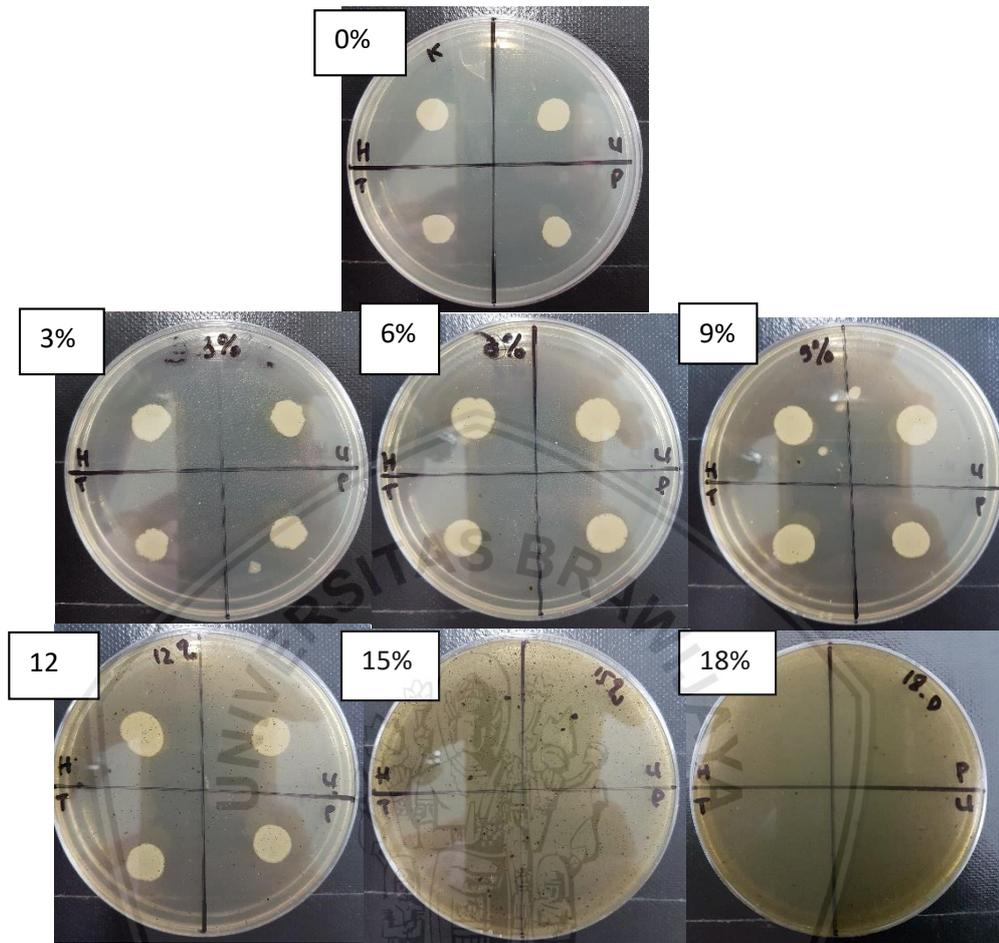
Nama Sampel	Triterpenoid	Alkaloid	Flavonoid	Steroid
Alga Merah (<i>Eucheuma cottonii</i>)	+	-	-	-

5.1.3 Hasil Uji Eksplorasi

Uji eksplorasi dilakukan dengan meneteskan ekstrak alga merah sebesar 10 μ L dengan konsentrasi 1,675%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% di atas agar yang sudah dilakukan *streaking* bakteri. Berdasarkan uji eksplorasi yang dilakukan, zona inhibisi mulai terbentuk di konsentrasi 12,5% (Lampiran 1).

5.1.4 Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi

Penelitian ini menggunakan metode dilusi agar dengan konsentrasi ekstrak alga merah yang berbeda-beda yaitu 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, dan 18%. Hasil efek antibakteri ekstrak alga merah terhadap pertumbuhan bakteri MRSA dengan mengamati secara visual kualitatif pertumbuhan bakteri pada tiap isolat dan konsentrasi dengan sistem skoring. Hasil dari pengamatan pada konsentrasi 15% sudah tidak ada pertumbuhan bakteri pada keempat isolat. Maka semakin tinggi konsentrasi ekstrak alga merah, semakin sedikit pertumbuhan koloni bakteri MRSA. Konsentrasi terendah dimana tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni dari bakteri MRSA ditetapkan sebagai KHM. Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 5.6.



Gambar 5.5 Hasil Metode Dilusi Agar pada MRSA dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) pada Medium *Mueller Hinton Agar*.

Keterangan :

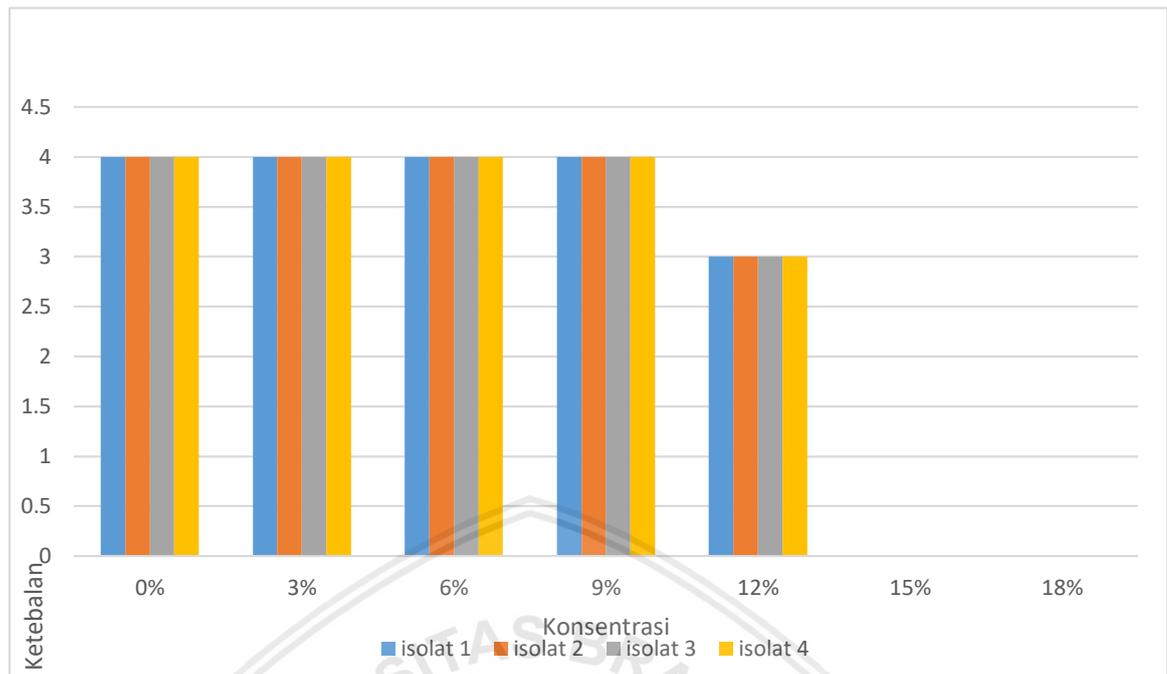
- Isolat 1 atau H: Swab hidung
- Isolat 2 atau T: Swab tenggorok
- Isolat 3 atau P: Pus
- Isolat 4 atau U: Urin

Tabel 5.2 Pertumbuhan Koloni *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* setelah Diberi Ekstrak Alga Merah

konsentrasi	Pengulangan			
	Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4
0	4	4	4	4
3	4	4	4	4
6	4	4	4	4
9	4	4	4	4
12	3	3	3	3
15	0	0	0	0
18	0	0	0	0

Keterangan gambar :

- 4: koloni bakteri tumbuh sangat tebal dan tidak dapat dihitung
- 3: koloni bakteri tumbuh tebal dan tidak dapat dihitung
- 2: koloni bakteri tumbuh tipis dan tidak dapat dihitung
- 1: koloni bakteri tumbuh sangat tipis dan tidak dapat dihitung
- 0: tidak ada pertumbuhan bakteri



Gambar 5.6 Pertumbuhan MRSA pada tiap Konsentrasi Ekstrak Alga Merah.

Berdasarkan Tabel 5.2 dan Gambar 5.6 di atas menunjukkan hasil pertumbuhan koloni bakteri MRSA pada setiap perlakuan pemberian ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*). Pada konsentrasi 0%, 3%, 6%, dan 9% terlihat koloni bakteri yang tumbuh sangat tebal dan tidak dapat dihitung yang dalam bentuk skor yaitu 4. Pada konsentrasi 12% pertumbuhan koloni bakteri mulai menipis dengan skor 3. Pada konsentrasi 15% dan 18% sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi terendah yang tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 15% yang didefinisikan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini.

5.2 Analisis Data

Pada penelitian ini, analisis data menggunakan *software* SPSS. Terdapat dua variabel pada penelitian ini yakni variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebas yakni konsentrasi ekstrak alga merah yang merupakan variabel

numerik. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pertumbuhan koloni bakteri MRSA yang merupakan variabel ordinal atau bertingkat. Analisis data menggunakan Uji Kruskal Wallis, Uji Mann-Whitney, dan Uji Kolerasi Spearman.

5.2.1 Uji Normalitas

Pada penelitian ini pertama kali dilakukan uji normalitas untuk mengetahui sebaran data berdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan Uji Shapiro-Wilk. Jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka data berdistribusi normal. Hasil uji normalitas (Lampiran 5) didapatkan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi tidak normal.

5.2.2 Uji Kruskal Wallis

Hasil Uji Kruskal Wallis didapatkan nilai signifikansi 0,000. Karena mempunyai nilai *p-value* ($0,000 < 0,05$) maka terdapat perbedaan yang signifikan antara perubahan konsentrasi ekstrak alga merah terhadap pertumbuhan koloni bakteri MRSA pada tingkat kepercayaan 5%. Hasil lebih rinci dapat dilihat di Lampiran 6.

5.2.3 Uji Mann-Whitney

Uji Mann-Whitney digunakan sebagai uji perbandingan berganda (*multiple comparison*) untuk data yang berskala ordinal dalam penelitian ini yaitu data kualitatif mengenai pertumbuhan koloni bakteri MRSA yang dihasilkan pada dilusi agar. Perbedaan jumlah koloni dianggap bermakna apabila $p < 0,05$. Ringkasan Uji Mann-Whitney ditampilkan pada tabel berikut.

Tabel 5.3 Hasil Uji Mann-Whitney

Konsentrasi	0%	3%	6%	9%	12%	15%	18%
0%	-	1,000	1,000	1,000	0,008*	0,008*	0,008*
3%	1,000	-	1,000	1,000	0,008*	0,008*	0,008*
6%	1,000	1,000	-	1,000	0,008*	0,008*	0,008*
9%	1,000	1,000	1,000	-	0,008*	0,008*	0,008*
12%	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	-	0,008*	0,008*
15%	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	-	1,000
18%	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	1,000	-

Keterangan : * = berbeda signifikan

Berdasarkan pada Tabel 5.3 didapatkan bahwa pertumbuhan bakteri MRSA pada konsentrasi 12% berbeda signifikan dengan semua konsentrasi karena memiliki $p < 0,05$. Pada konsentrasi 0%, 3%, 6%, dan 9% berbeda signifikan dengan konsentrasi 12%, 15%, dan 18% karena memiliki $p < 0,05$. Sementara pada konsentrasi 0% dengan 3%, 6% dan 9% tidak berbeda signifikan karena memiliki nilai $p > 0,05$. Pada konsentrasi 3% dengan 6% dan 9% tidak berbeda signifikan karena memiliki nilai $p > 0,05$. Sama halnya dengan 6% dengan 9% tidak berbeda signifikan karena memiliki nilai $p > 0,05$. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sebagian dari setiap perlakuan pada penelitian ini berbeda signifikan terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Pada konsentrasi 0%, 3%, 6%, dan 9% berbeda signifikan dengan konsentrasi 12%, 15%, dan 18%. Dari hasil penelitian dapat dianalisis bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak alga merah yang diberikan menurunkan pertumbuhan bakteri MRSA dan mempunyai efek

antibakteri mulai konsentrasi 12% dengan nilai KHM pada konsentrasi 15%. Hasil lebih rinci dapat dilihat di Lampiran 7.

5.2.4 Uji Korelasi Spearman

Untuk mengetahui besarnya hubungan dari pemberian ekstrak alga merah terhadap pertumbuhan koloni bakteri MRSA yang berskala ordinal, maka digunakan uji Korelasi Spearman. Berdasarkan hasilnya diperoleh nilai korelasi antara konsentrasi perlakuan dengan pertumbuhan bakteri yang mempunyai koefisien korelasi sebesar $r = -0,896$ ($p = 0,000$) menunjukkan terdapat hubungan yang sangat kuat antara konsentrasi dengan jumlah koloni. Nilai negatif menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin sedikit jumlah koloni yang terbentuk. Nilai signifikan 0,000 yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi terhadap jumlah koloni. Hasil lebih rinci dapat dilihat di Lampiran 8.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Identifikasi Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebelumnya dilakukan identifikasi terlebih dahulu pada keempat isolat dengan menggunakan pengecatan Gram yang menghasilkan bakteri Gram positif dan berbentuk kokus. Kemudian dilakukan tes katalase yang menghasilkan gelembung, tes koagulasi yang menghasilkan gumpalan-gumpalan putih. Dan yang terakhir dilakukan uji kepekaan terhadap antibiotik golongan *methicillin* yaitu *cefoxitin* yang hasilnya terjadi resistensi karena tidak ada zona hambat.

6.2 Dilusi Agar dan Efek Senyawa Aktif Sebagai Antibakteri

Pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode dilusi agar dengan konsentrasi 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, dan 18%. Hasil yang didapat Kadar Hambat Minimum terjadi pada konsentrasi 15% yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri. Adanya penurunan pertumbuhan bakteri MRSA pada penelitian ini dikarenakan kandungan bahan-bahan dari ekstrak alga merah yang diduga memiliki potensi sebagai antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, triperpenoid, dan steroid. Flavonoid memiliki mekanisme sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler (Kumar dan Abhay, 2013). Alkaloid mengganggu penyusunan peptidoglikan bakteri, sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Darsana dkk., 2012). Triterpenoid menghambat sintesis protein sehingga menyebabkan perubahan komponen-

komponen penyusun sel bakteri (Rosyidah dkk., 2010). Sementara steroid memiliki mekanisme yang sama dengan triterpenoid yaitu dengan menghambat sintesis protein (Rosyidah dkk., 2010). Namun pada penelitian ini didapatkan bahwa hanya kandungan triterpenoid yang positif pada hasil skrining fitokimia. Hal ini bisa terjadi karena kadar di dalam bahan uji terlalu sedikit, bahan uji (ekstrak) tidak memenuhi syarat, pelarut yang digunakan berbeda, dan perbedaan lingkungan tumbuh alga merah. Namun demikian, walaupun yang ada hanya kandungan triterpenoid pada ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*), tetap efektif sebagai antiMRSA dengan konsentrasi 15%. Hal ini dikarenakan senyawa triterpenoid menghambat sintesis protein dengan mencegah terikatnya tRNA di ribosom, sehingga sel bakteri MRSA tidak dapat tumbuh dan berkembang. Maka triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Hal ini sesuai dengan penelitian Rosyidah dkk. (2010) yakni senyawa triterpenoid menghambat sintesis protein sehingga menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri.

Ekstrak alga merah tidak hanya menghambat bakteri MRSA, melainkan bisa juga pada bakteri lain. Hal ini didukung oleh penelitian-peanelitian yang sudah dilakukan oleh yang lain. Menurut penelitian Andriani dkk. (2015) ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dengan menggunakan pelarut metanol, n-Heksana, Petroleum eter, Kloroform, dan etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi cakram, hasilnya berbeda pada tiap pelarut yang digunakan. Penggunaan pelarut metanol pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memiliki efek dalam aktivitas antibakteri dibandingkan dengan pelarut lain. Sehingga pada konsentrasi 4% dengan pelarut metanol ekstrak alga merah paling efektif sebagai antibakteri.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Soelama dkk. (2015) ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dengan menggunakan metode serial dilusi atau pengenceran bertingkat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* didapatkan hasil Kadar Hambat Minimum pada konsentrasi 12,5%. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sartika dkk. (2013) ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dengan menggunakan metode difusi agar terhadap empat bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella Typhi* didapatkan hasil Kadar Hambat Minimum yang berbeda-beda. Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Vibrio cholera* pada konsentrasi 1% terdapat nilai KHM. Sementara bakteri *Salmonella Typhi* pada konsentrasi 5% terdapat nilai KHM. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Prajitno (2008) ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) dengan metode difusi agar kertas cakram terhadap bakteri *Vibrio harveyi* didapatkan hasil KHM pada konsentrasi 3%.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dibandingkan dengan penelitian dan analisis data yang sudah dilakukan oleh peneliti saat ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki efek sebagai antibakteri pada pertumbuhan bakteri MRSA dengan metode dilusi agar secara *in vitro*. Sehingga dalam hal ini sesuai dengan hipotesis pada penelitian ini.

6.3 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Pada aplikasi di bidang kedokteran masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis yang aman dan tepat untuk ekstrak alga merah agar dapat berfungsi sebagai antimikroba terhadap bakteri MRSA dan agar tidak membunuh bakteri flora normal yang ada di dalam tubuh manusia. Diperlukan juga penelitian lanjutan pada hewan coba untuk mengetahui efek farmakodinamik dan

farmakokinetiknya, sehingga ekstrak alga merah dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional pada manusia.

6.4 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini memiliki keterbatasan di antaranya yaitu tidak diketahui secara pasti jumlah presentase dari masing-masing bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak alga merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Tidak diketahui standarisasi dalam pemilihan bahan serta lama penyimpanan ekstrak alga merah. Metode skoring yang dilakukan peneliti sebagai penilaian Kadar Hambat Minimum yang bersifat subjektif sehingga penelitian ini rentan menimbulkan bias. Bias yang dapat terjadi pada saat proses penilaian skoring pada koloni bakteri yaitu adanya perbedaan penilaian ketebalan koloni bakteri dan penentuan pertumbuhan koloni bakteri tidak dapat dihitung atau dapat dihitung.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) memiliki efek antibakteri terhadap *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*, ditandai dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) yang diberikan, semakin rendah pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) konsentrasi ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah konsentrasi 15%.

7.2 Saran

Adanya berbagai kekurangan dalam penelitian ini maka saran dari peneliti adalah :

1. Perlu ada standarisasi dalam pemilihan bahan serta lama penyimpanan ekstrak yang dapat digunakan sebagai antibakteri.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui presentase masing-masing bahan aktif yang terkandung dan perlu proses fraksinasi atau isolasi senyawa triterpenoid dalam ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*).
3. Perlu penelitian lebih lanjut secara *in vivo* pada hewan coba untuk mengetahui dosis efektif, dosis letal, efek samping, serta dilanjutkan dengan pengujian pada manusia agar mendapatkan efek antibakteri dari

ekstrak alga merah (*Eucheuma cottonii*) sebelum digunakan untuk keperluan medis pada masyarakat luas.

4. Perlu alat terbaru untuk menentukan penilaian ketebalan koloni bakteri dan jumlah pertumbuhan koloni bakteri.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Maksoud, M., El-Shokry, M., Ismail, G., Hafez, S., El-Kholy, A., Attia, E., and Talaat, M. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Recovered from Healthcare- and Community-Associated Infections in Egypt. *International Journal of Bacteriology*, 2016, hal. 1-5.
- Andriani, Z., Fasya A.G., dan Hanapi H. Antibacterial Activity of the Red Algae *Eucheuma cottonii* Extract from Tanjung Coast, Sumenep Madura. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 2015, 4 (2), hal. 93-100.
- Artaya, P.I. Uji Persepsi dengan Mann-Whitney-U Test. *Metode Analisis Penelitian Kualitatif*, 2018, hal. 21-29.
- Aslan, L. 1998. *Budidaya rumput Laut*. Jogyakarta: Kanisius.
- Bangkele, E.Y., Nursyamsi, dan Greis, S. Efek Anti Bakteri dari Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galangal* [L] Swartz) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Kesehatan Tadulako*, 2015, 1 (2), hal. 1-78.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A., 2001. Medical Microbiology, 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*, Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 2005, Salemba Medika, Jakarta. Hal 362-364.
- Chen, C.J. and Huang, Y.C. New epidemiology of Staphylococcus aureus infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014, 20 (7), hal. 605-623.
- Cushnie, T.P.T., Cushnie, B., and Lamb, A.J. Alkaloids: an Overview of Their Antibacterial, Antibiotic-Enhancing and Antivirulence Activities. *ELSEIVER: International Journal of Antimicrobial Agents*, 2014, Vol. 44, hal. 377-386.
- Darsana, I.G.O., Besung, I.N.K., dan Mahatmi, H. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 2012, 1 (3), hal. 337-351.
- Datta, P., Gulati, N., Singla, N., Vasdeva, H.R., Bala, K., Chander, J., and Gupta, V. Evaluation of Various Methods for The Detection of Meticillin-resistant Staphylococcus aureus Strains and Susceptibility Patterns. *Journal of Medical Microbiology*, 2011, 60, 1613-1616.
- Doty, M.S., 1987. *Case Studies of Seven Commercial Seaweed Resources*. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome. Hal. 125.

- Farouk, A.E., Ghouse, F.A.H., and Ridzwan, B.H. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2007, 3 (2), hal. 60-65.
- Ghani, M.I.E.B.A., 2016, *Staphylococcus aureus*, (Online), (<http://www.myhealth.gov.my/en/staphylococcus-aureus-s-aureus/>), diakses pada tanggal 28 Oktober 2018).
- Green, B.N., Johnson, C.D., Egan, J.T., Rosenthal, CDR M., Griffith, E.A, and Evans M.W. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview for manual therapists. *Journal of Chiropractic Medicine*, 2012, 11, hal. 64-76.
- Hanapi, A., Fasya, A.G., Mardiyah U., dan Miftahurrahmah. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Alga Merah *Euचेuma spinosum* dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi. *ALCHEMY*, 2013, 2 (2), hal. 126-137.
- Harborne, J.B., 1987. *Metoda Fitokimia Penuntun Cara Menganalisa Tumbuhan*. Edisi II. ITB, Bandung.
- Hardana, H. dan Warganegara, E. Ekstrak Buah Delima Sebagai Antibiotik Pengobatan Infeksi MRSA, *Majority*, 2015, 4 (9), hal. 83-87.
- Hidayat, A. Penjelasan tentang *Uji Normalitas dan Metode Penghitungan*, (Online), (<https://www.statistikian.com/2013/01/uji-normalitas.html>), diakses pada tanggal 22 Januari 2019).
- Huse, H.K., Miller, S.A., Chandrasekaran, S., Hindler, J.A., Lawhon, S.D., Bemis, D.A., Westblade, L.F., and Humphries, R.M. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Evaluation of Oxacillin and Cefoxitin Disk Diffusion and Minimum Inhibitory Concentration Breakpoints for Detection of *mecA*-mediated Oxacillin Resistance in *Staphylococcus schleiferi*. *American Society for Microbiology*, 2017, hal.1-31.
- Junaidi, 2015. *Statistik Uji Kruskal-Wallis*. Fakultas Ekonomi Universitas Jambi. Hal. 1-5.
- KEMENKES, 2015. *Penggunaan Antibiotik Bijak dan Rasional Kurangi Beban Penyakit Infeksi*, (Online), (<http://www.depkes.go.id/article/print/15081100001/penggunaan-antibiotik-bijak-dan-rasional-kurangi-beban-penyakit-infeksi.html>), diakses pada tanggal 28 Oktober 2018).
- Kong, E.F., Johnson, J.K., and Jabra-Rizk, M.A. Community-Associated *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*: An Enemy amidst US. *PLOS Pathogens*, 2016, 12(10), hal. 1-7.

- Kumar, S. and Abhay, K.P. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal*, 2013, Vol. 2013, hal. 1-16.
- Kurniawati, A.F.S., Satyabakti, P., dan Arbianti, N. Perbedaan Risiko *Multidrug Resistance Organisms* (MDROS) Menurut Faktor Risiko Dan Kepatuhan Hand Hygiene. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 2015, 3 (3), hal. 277-289.
- Lestario, Ninan, L., Sugiarto, S., dan Timotius, K.H. Aktivitas antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria verucosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 2008, Vol. XIX.
- Liana, P. Gambaran Kuman *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Patologi Klinik Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) Periode Januari-Desember 2010. *MKS*, 2014, 46 (3), hal. 171-175.
- Loekito, H. H., 1998. *Rancangan Percobaan*, IKIP Malang, Malang.
- Maharany, F., Nurjanah, Suwandi, R., Anwar, E., dan Hidayat, T. Kandungan Senyawa Bioaktif Rumput Laut *Padina australis* dan *Euचेuma cottonii* sebagai Bahan Baku Krim Tabir Surya. *JPHPI*, 2017, 20 (1), hal. 10-17.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., and Pfaller, M.A., 2007. *Manual Clinical Microbiology*, 9th Edition, ASM Press, Washington DC. Hal. 2488.
- Noorhamdani, Santoso, S., Sumarno, Dzen, S.M., Winarsih, S., Santosaningsih, D., Hidayati, D.Y.N., Mulyastuti, Y., Erikawati, D., Rahayu S.I., dan Fitri, B.S., 2015. *Bakteriologi Medik*, Edisi 2, Laboratorium Mikrobiologi FKUB, Malang. Hal. 197-202.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., Sumantri. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Eschericia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 2009, 5 (2), hal. 26-37.
- Pradeka, R., Setiawan, A., dan Linawati, L. Uji Koefisien Korelasi Spearman dan Kendall Menggunakan Metode Bootstrap (Studi Kasus: Beberapa Kurs Mata Uang Asing terhadap Rupiah). *Seminar Nasional Matematika*, 2012, hal. 403-413.
- Prahadi, Y.Y. 2015. *RI Produsen Rumput Laut Cottonii Terbesar di Dunia*, (Online), (<https://swa.co.id/swa/trends/management/ri-produsen-rumput-laut-cottonii-terbesar-di-dunia>, diakses pada tanggal 22 Desember 2017).

- Prajitno, A. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai Bioaktif Alami terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein*, 2007, 15 (2), hal. 66-71.
- Putra, A.A.B., Bogoriani, N.W., Diantariani, N.P., dan Sumadewi, N.L.U. Ekstraksi Zat Warna Alam dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca L.*) dengan Metode Maserasi, Refluks, dan Sokletasi. *Jurnal Kimia*, 2014, 8 (1), hal. 113-119.
- Redha, A. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif, dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlian*, 2010, 9 (2), hal. 196-202.
- Rosenbach. 1884. *Staphylococcus aureus*, (Online), (https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=369#null, diakses pada tanggal 28 Oktober 2018).
- Rosyidah, K., Nurmuhamina, S.A., Komari, N., dan Astuti, M.D. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 2010, 1 (2), hal. 53-103.
- Rusman, M. 2017. *Harga rumput laut naik jadi Rp14.500/kg*, (Online), (<https://www.antaraneews.com/berita/657094/harga-rumput-laut-naik-jadi-rp14500-kg>, diakses pada tanggal 22 Desember 2017).
- Sari, I. dan Nursanty, R. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan dan Metanol dari Daun Tutup Bumi (*Elephantopus scaber*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 2017, hal. 397-402.
- Sartika, R., Melki, dan Purwiyanto, A.I.S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma cottonii* terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*, dan *Salmonella typhosa*. *Maspari Jurnal*, 2013, 15 (2), hal. 98-103.
- Selvan, B.K., Piriya, P.S., Chandrasekhar, M., and Vennison, S.J. Macro Algae (*Eucheuma cottonii* and *Sargassum* sp.) are Reservoirs of Biodiesel and Bioactive Compounds. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 2014, hal. 62-70.
- Siregar, A.F., Sabdono, A., dan Pringgenies, D. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*, 2012, 1 (2), hal. 152-160.
- Soelama, H.J.J., Kepel, B.J., dan Siagian, K.V. Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*)

sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-Gigi (eG)*, 2015, 3 (2), hal. 374-379.

Soleha, T.U. Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. *Juke Unila*, 2015, 5(9), hal. 119-123.

Stewart, P.D. 2016. *Eucheuma cottonii*, (Online), (<https://www.naturepl.com/stock-photo-agar-seaweed-eucheuma-cottonii-seaweed-grown-commercially-on-long-image01546231.html>), diakses pada tanggal 19 Januari 2019).

Susanti, A.D., Ardiana, D., Gumelar P., G., dan Bening G., Y. Polaritas Pelarut sebagai Pertimbangan dalam Pemilihan Pelarut untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (*Oryza sativa glutinosa*). *Simposium Nasional RAPI XI FT UMS*, 2012, hal. 8-14.

Wiegand, I., Hilpert, K., and Hancock, R.E.W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 2008, 3 (2), hal. 163–175.

Wijayanto, T., Hendri, M., dan Aryawati, R. Studi Pertumbuhan Rumput Laut *Eucheuma cottonii* dengan Berbagai Metode Penanaman yang Berbeda di Perairan Kaliandam, Lampung Selatan. *Maspuri Journal*, 2011, 3, hal. 51-57.

Wiratmaja, I.G., Kusuma, I.G.B.W., dan Winaya, I.N.S. Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma cottonii* sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin Cakra*, 2011, 5 (1), hal. 75-84.

Wresdiyati, T., Hartanta, A.B., dan Astawan, M. Tepung Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) Menaikkan Level Superoksida Dismutase (SoD) Ginjal tikus Hiperkolesterolemia. *Jurnal Veteriner*, 2011, 12 (2), hal. 126-135.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Eksplorasi Konsentrasi



Zona inhibisi terbentuk pada konsentrasi 12,5%

Uji eksplorasi dilakukan dengan meneteskan ekstrak alga merah sebesar 10 μ L dengan konsentrasi 1,675%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% di atas agar Muller Hinton (MH) yang sudah dilakukan *streaking* dengan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Zona inhibisi mulai terbentuk di konsentrasi 12,5%. Konsentrasi ini selanjutnya digunakan sebagai dasar penentuan konsentrasi pada penelitian utama. Untuk menentukan konsentrasi pada penelitian utama dengan mempertimbangkan bahwa zona inhibisi pada konsentrasi 12,5% dan konsentrasi ditetapkan dengan interval 3, maka konsentrasi pada penelitian utama ini yaitu 0%, 3%, 6%, 9%, 12%, 15%, dan 18% yang diujikan pada empat isolat bakteri MRSA.

Lampiran 2. Alat dan Bahan



Inkubator



Spektrofotometer



Vortex



Mikroskop



Slides



Mikropipet



Bunsen



Ose



Bahan pewarnaan Gram (Kristal violet, lugol, alkohol, Safranin)



Isolat Bakteri MRSA



Alga Merah (*Eucheuma cottonii*)

Lampiran 3. Surat Keterangan Alga Merah

KELOMPOK MITRA BERSAMA
Alamat : Dusun Jumiang, Desa Tanjung, Kecamatan Pademawu, Pamekasan

SURAT KETERANGAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

1. Nama : Tosan
2. Jabatan : Ketua Kelompok Petani Rumput Laut
3. Nama Kelompok : Mitra Bersama
4. Bidang Usaha : Budidaya Rumput Laut *Eucheuma cottonii*
5. Alamat : Dusun jumiang, Desa Tanjung, Kecamatan Pademawu, Kabupaten Pamekasan

Menerangkan bahwa sampel rumput laut yang kami serahkan kepada Sdri. Adhita Puteri Aulia (Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur) adalah Jenis **Rumput Laut *Eucheuma cottonii***.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya, untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Pamekasan, 28 Mei 2018
Ketua Kelompok

(Tosan)





PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Labor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU 65313

Halaman : 2 dari 2

Kesimpulan :

- Uji Alkaloid dengan Pereaksi Meyer → Hasil Negatif (-) tidak mengandung Alkaloid dengan Pereaksi Meyer
- Uji Alkaloid dengan Pereaksi Dragendrof → Hasil Negatif (-) tidak mengandung Alkaloid dengan Pereaksi Dragendrof
- Uji Alkaloid dengan Pereaksi Bouchardat → Hasil Negatif (-) tidak mengandung Alkaloid dengan Pereaksi Bouchardat
- Uji Flavonoid → Hasil Negatif (-) tidak mengandung Flavonoid
- Uji Terpenoid → Hasil Positif (+) mengandung Terpenoid jenis Triterpenoid, ditunjukkan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi jingga kecoklatan

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 20 Juli 2018
Kepala UPT Materia Medica Batu


Dr. Husin R.M.K. Drs., Apt., MKes.
NIP. 19611102 199103 1 003

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 5. Uji Normalitas**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan	.336	28	.000	.654	28	.000

a. Lilliefors Significance Correction



Lampiran 6. Uji Kruskal Wallis

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Ketebalan	0%	4	20.50
	3%	4	20.50
	6%	4	20.50
	9%	4	20.50
	12%	4	10.50
	15%	4	4.50
	18%	4	4.50
	Total	28	

Test Statistics^{a,b}

	Ketebalan
Chi-Square	27.000
df	6
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok



Lampiran 7. Uji Mann-Whitney

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	0%	4	4.50	18.00
	3%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	0%	4	4.50	18.00
	6%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	0%	4	4.50	18.00
	9%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	0%	4	6.50	26.00
	12%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	0%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	0%	4	6.50	26.00
	18%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	3%	4	4.50	18.00
	6%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	3%	4	4.50	18.00
	9%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	3%	4	6.50	26.00
	12%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	3%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	3%	4	6.50	26.00
	18%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	6%	4	4.50	18.00
	9%	4	4.50	18.00
	Total	8		

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	6%	4	6.50	26.00
	12%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	6%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	6%	4	6.50	26.00
	18%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	9%	4	6.50	26.00
	12%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	9%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	9%	4	6.50	26.00
	18%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	12%	4	6.50	26.00
	15%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	12%	4	6.50	26.00
	18%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

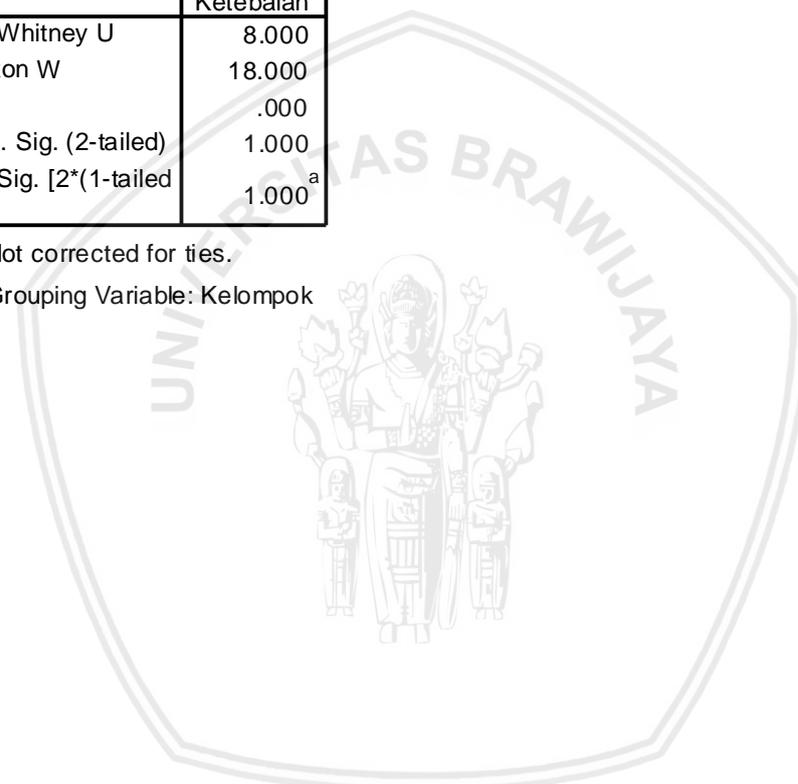
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan	15%	4	4.50	18.00
	18%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok



Lampiran 8. Uji Korelasi Spearman

Nonparametric Correlations

Correlations

			Konsentrasi	Ketebalan
Spearman's rho	Konsentrasi	Correlation Coefficient	1.000	-.896**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	28	28
	Ketebalan	Correlation Coefficient	-.896**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	28	28

** . Correlation is significant at the .01 level (2-tailed).

