

**UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI  
ETIL ASETAT, KLOROFORM DAN PETROLEUM ETER  
EKSTRAK METANOL ALGA COKLAT *Sargassum vulgare*  
DARI PANTAI KAPONG PAMEKASAN MADURA**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**SITI KHOIRIYAH**  
NIM. 10630029



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2014**

**UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL  
ASETAT, KLOOROFORM DAN PETROLEUM ETER EKSTRAK  
METANOL ALGA COKLAT *Sargassum vulgare* DARI PANTAI KAPONG  
PAMEKASAN MADURA**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains Dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)**

**Oleh :**

**Siti Khoiriyah  
NIM. 10630029**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2014**

## SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Khoiriyah

NIM : 10630029

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* Dari Pantai Kapong Pamekasan Madura

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 10 September 2014

Yang membuat Pernyataan,

Siti Khoiriyah  
NIM. 10630029

**UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL  
ASETAT, KLOOROFORM DAN PETROLEUM ETER EKSTRAK  
METANOL ALGA COKLAT *Sargassum vulgare* DARI PANTAI KAPONG  
PAMEKASAN MADURA**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Siti Khoiriyah  
NIM. 10630029**

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

Ahmad Hanapi, M.Sc  
NIPT.20140201 1 422

Ahmad Abtokhi, M.Pd  
NIP.19761003 200312 1 002

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL  
ASETAT, KLOOROFORM DAN PETROLEUM ETER EKSTRAK  
METANOL ALGA COKLAT *Sargassum vulgare* DARI PANTAI KAPONG  
PAMEKASAN MADURA**

**SKRIPSI**

**Oleh :  
Siti Khoiriyah  
NIM. 10630029**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Malang, 10 September 2014

Susunan Dewan Penguji :		Tanda Tangan
1. Penguji Utama	: Akyunul Jannah, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	( )
2. Ketua Penguji	: Tri Kustono Adi, M.Sc NIP. 19710311 200312 1 002	( )
3. Sekretaris Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIPT. 20140201 1 422	( )
4. Anggota Penguji	: Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19761003 200312 1 002	( )

**Mengetahui dan Mengesahkan  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang**

**Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**



## LEMBAR PERSEMBAHAN

Karya kecil ini khusus aku persembahkan untuk Mak, Bapak dan Zuli. Cita-cita kalian untuk punya keluarga yang bisa kuliah dan gelar sarjana kini Allah wujudkan lewat karya ini. Terima kasih doanya Mak, Pak, Zul... Terima kasih atas tetesan peluh keringat yang kalian lakukan hanya untuk kursi kuliahku. Keluargaku terkasih Yai Pan, Bek Mut dan Gus Juned terima kasih atas doanya.

Untuk Gus karim, Mas Juni dan Kak Akbar, karya ini sebagai wujud impian kalian yang telah aku wujudkan meski tak sempurna. Kesempatan untuk kuliah yang belum Allah berikan kini aku dapatkan untuk kalian. Terima kasih atas dukungan semangat dan doanya selama ini. Untuk ayah Roni yang telah menemani dan menunggu hingga aku bisa kembali pulang, terima kasih doa dan dukungannya ayah. Perjalanan panjang yang telah terlewati tentu tak akan sia-sia. Karya ini wujud kerja keras dan usahaku untuk mendapatkan hal paling indah yang aku impikan dan kelak dapat bermanfaat untuk kita.

Memet & mba Lel... Kalian sahabatku yang paling So Sweet karena telah menemani dan banyak membantu. Untuk Duo antibakteri Kis & Diah, terima kasih atas kerja samanya. Tak lupa Pak Hanapi dan Pak Ghanaim karena Beliauulah yang menuntunku hingga karya kecil ini selesai, terima kasih ketelatenannya Pak. Richa, Aa', Navis, Pipita dan Nuril, kalian orang-orang inspiratif yang selalu mengingatkanku untuk segera menyelesaikan karya ini.

Notebookku tersayang, Ai... terima kasih telah menemani dan membantuku hingga bateraimu rusak. Terakhir, karya ini juga aku persembahkan untuk semua yang turut membantu dan mendoakan atas keberhasilanku yang aku tempuh selama 4 tahun terakhir ini.

-(( Siti Khoiriyah, S.Si ))-

## MOTTO

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ



*“Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi  
manusia lainnya”*

## KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayahNya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian ini yang berjudul: “Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil asetat, Kloroform dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* Dari Pantai Kapong Pamekasan Madura”. Laporan hasil penelitian ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulisan laporan hasil penelitian ini tidak lepas dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis.
5. Ahmad Hanapi, M.Sc selaku pembimbing yang selalu mengarahkan saat penulis mendapatkan kesulitan; A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku konsultan;

Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku pembimbing agama; Akyunul Jannah, M.P selaku penguji utama dan Tri Kustono Adi, M.Sc selaku ketua penguji.

6. Staf Laboratorium dan Administrasi Jurusan Kimia atas bantuan dan sumbangan pemikiran selama penelitian dan penyusunan laporan hasil penelitian ini.
7. Hj. Chusnul Chotimah dan H. Nur Hasan. Terima kasih atas doa yang tak pernah putus yang hanya untuk kesuksesan penulis. Ach. Jazuli yang selalu memberi semangat saat penulis mulai lelah dan lupa akan semangat juang dalam menggapai mimpi.
8. Teman-teman Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang khususnya kelas A angkatan 2010 yang telah berbagi kebersamaannya.
9. Pengasuh dan Musyrif/ah Mahad Sunan Ampel al-Aly, khususnya teman-teman kamar 32 Asma' Binti Abi Bakr dan kamar 32 Khadijah al Kubro.
10. Semua rekan dan pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis berharap semoga laporan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semuanya.

Malang, 10 September 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

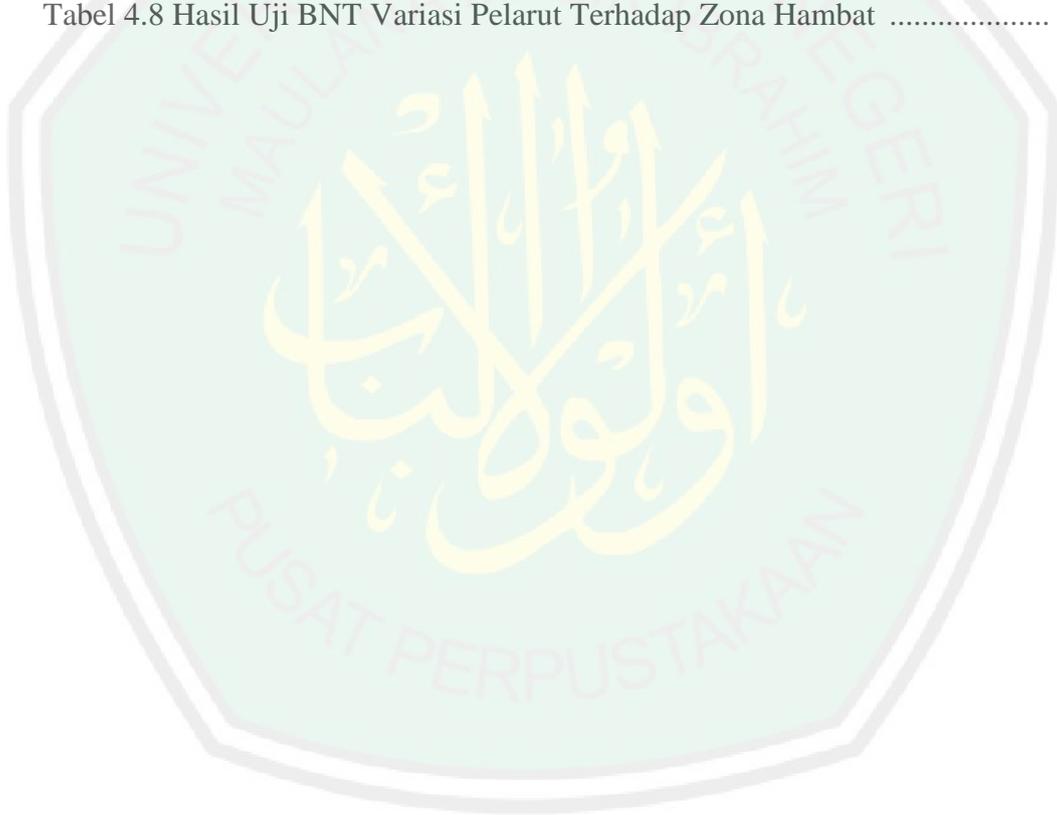
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR ORISINALITAS .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Batasan Masalah .....	7
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
2.1 Kekayaan Laut Dalam Perspektif Islam .....	8
2.2 Alga Coklat <i>Sargassum</i> sp. ....	10
2.3 Taksonomi Alga Coklat <i>Sargassum vulgare</i> .....	11
2.4 Manfaat dan Kandungan Alga Coklat .....	12
2.5 Ekstraksi Maserasi .....	13
2.6 Hidrolisis .....	14
2.7 Ekstraksi Cair-cair (Partisi) .....	16
2.8 Uji Gula Reduksi Metode DNS (3,5-dinitrosalisilat) .....	16
2.9 Bakteri .....	17
2.9.1 Bakteri Gram Positif .....	18
2.9.2 Bakteri Gram Negatif .....	19
2.9.3 Media Pertumbuhan Bakteri .....	20
2.10 Uji Aktivitas Antibakteri .....	22
2.10.1 Antibakteri .....	22
2.10.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	23
2.10.3 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri .....	24
2.10.4 Penentuan Jumlah Bakteri .....	25

2.11 Uji Fitokimia .....	27
2.11.1 Triterpenoid .....	28
2.11.2 Steroid.....	29
2.11.3 Flavonoid .....	30
2.11.4 Alkaloid .....	31
2.11.5 Saponin .....	32
2.11.6 Tanin .....	33
2.12 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	34
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>36</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	36
3.2 Alat dan Bahan .....	36
3.2.1 Alat .....	36
3.2.2 Bahan .....	36
3.3 Rancangan Penelitian .....	37
3.4 Tahapan Penelitian .....	38
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	39
3.5.1 Preparasi Sampel .....	39
3.5.2 Analisis Kadar Air .....	39
3.5.3 Analisis Kadar Garam .....	40
3.5.4 Ekstraksi Sampel .....	40
3.5.5 Uji Kadar Gula Reduksi dengan Metode DNS.....	41
3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum.....	41
3.5.5.2 Pembuatan Kurva Standar .....	42
3.5.5.3 Analisis Gula Reduksi Ekstrak Sebelum dan Setelah Hidrolisis .....	42
3.5.6 Uji Antibakteri .....	42
3.5.6.1 Sterilisasi Alat .....	42
3.5.6.2 Pembuatan Media Padat .....	43
3.5.6.3 Pembuatan Media Cair .....	43
3.5.6.4 Peremajaan Biakan Murni Bakteri .....	43
3.5.6.5 Pembuatan Larutan Biakan Bakteri .....	44
3.5.6.6 Uji Aktivitas Antibakteri .....	44
3.5.6.7 Penentuan Jumlah Bakteri .....	45
3.5.7 Uji Golongan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen .....	46
3.5.7.1 Uji Alkaloid .....	46
3.5.7.2 Uji Flavonoid .....	46
3.5.7.3 Uji Saponin .....	46
3.5.7.4 Uji Triterpenoid .....	47
3.5.7.5 Uji Steroid .....	47

3.5.7.6 Uji Tanin .....	47
3.5.7.6.1 Uji dengan FeCl <sub>3</sub> .....	47
3.5.7.6.2 Uji dengan Larutan Gelatin.....	47
3.5.8 Identifikasi Golongan Senyawa dengan KLTA .....	47
3.6 Analisis Data .....	50
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>51</b>
4.1 Preparasi Sampel .....	51
4.2 Analisis Kadar Air .....	52
4.3 Analisis Kadar Garam .....	53
4.4 Ekstraksi Alga Coklat <i>S. vulgare</i> .....	54
4.4.1 Maserasi .....	54
4.4.2 Hidrolisis .....	55
4.4.3 Partisi (Ekstraksi cair-cair) .....	56
4.4.4 Uji Gula Reduksi .....	57
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri .....	59
4.6 Uji Fitokimia .....	64
4.6.1 Steroid .....	65
4.7 Pemisahan Golongan Senyawa dengan KLTA .....	67
4.8 Analisis Data .....	70
4.9 Pemanfaatan Alga Coklat <i>S. vulgare</i> Dalam Perspektif Islam .....	73
<b>BAB IV PENUTUP .....</b>	<b>76</b>
5.1 Kesimpulan .....	76
5.2 Saran .....	76
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>77</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbedaan Relatif Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif .....	18
Tabel 2.2 Ketentuan Kekuatan Antibakteri .....	24
Tabel 4.1 Kadar Air Alga Coklat <i>S. vulgare</i> .....	52
Tabel 4.2 Hasil Ekstraksi dan Rendemen Masing-masing Fraksi .....	57
Tabel 4.3 Kadar Gula Reduksi Ekstrak Metanol dan Masing-masing Fraksi ....	57
Tabel 4.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> .....	60
Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>E. coli</i> .....	61
Tabel 4.6 Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Alga Coklat <i>S. vulgare</i> .....	65
Tabel 4.7 Hasil Pemisahan Golongan Senyawa Steroid .....	69
Tabel 4.8 Hasil Uji BNT Variasi Pelarut Terhadap Zona Hambat .....	72



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Sargassum</i> sp. ....	11
Gambar 2.2 Dugaan Reaksi Hidrolisis Ikatan <i>O</i> -Glikosida .....	15
Gambar 2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
Gambar 2.4 <i>Eschericia coli</i> .....	20
Gambar 2.5 Struktur Senyawa Triterpenoid .....	28
Gambar 2.6 Struktur Inti Senyawa Steroid .....	29
Gambar 2.7 Struktur Dasar Senyawa Flavon .....	30
Gambar 2.8 Struktur Senyawa Alkaloid .....	31
Gambar 2.9 Struktur Inti Senyawa Saponin .....	32
Gambar 4.1 Sampel <i>S. vulgare</i> Basah (a) dan Kering (b) .....	51
Gambar 4.2 Reaksi Hidrolisis Ikatan <i>O</i> -glikosida .....	55
Gambar 4.3 Reaksi Penetralan Dengan Natrium Bikarbonat .....	56
Gambar 4.4 Reaksi Antara Reagen DNS Dengan Glukosa .....	58
Gambar 4.5 Dugaan Reaksi Steroid Dengan Reagen Lieberman-Buchard .....	66
Gambar 4.6 Hasil Pemisahan Golongan Senyawa Steroid Dengan KLTA .....	68

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	86
Lampiran 2. Skema Kerja .....	87
Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan Ekstrak .....	96
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air .....	102
Lampiran 5. Perhitungan Kadar Garam .....	104
Lampiran 6. Perhitungan Rendemen .....	105
Lampiran 7. Perhitungan Kadar Gula Reduksi Metode DNS .....	107
Lampiran 8. Perhitungan Jumlah Bakteri dan Uji Aktivitas Antibakteri.....	109
Lampiran 9. Analisis Data .....	112
Lampiran 10. Pemisahan Golongan Senyawa Steroid dengan KLTA.....	115
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian .....	120
Lampiran 12. Tabel Rencana Penelitian ( <i>Time Schedule</i> ) .....	126



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Allah SWT menciptakan segala sesuatu di bumi ini dengan manfaatnya masing-masing, salah satunya adalah laut dan segala sesuatu yang ada di dalamnya. Pemanfaatan hasil laut tidak hanya berupa ikan, namun masih banyak makhluk hidup lainnya yang dapat dimanfaatkan keberadaannya. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat an Nahl ayat 14 :

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى  
الْفُلَّكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾.

“Dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai, dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karuniaNya dan supaya kamu bersyukur” (QS. an Nahl : 14).

Makna *sakhkhara al-bahra* menjelaskan bahwa Allah SWT telah menundukkan laut yaitu memberikan nikmatNya yang ada di laut kepada hamba-hambaNya, sehingga memungkinkan bagi hamba-hambaNya untuk mengambil manfaat darinya dan mencapai daerah-daerah yang terhalang oleh lautan, sehingga dapat memperoleh keuntungan dalam perdagangan dan lain sebagainya (Asy-Syanqithi, 2007). Sebagaimana dalam kalimat di atas Allah SWT telah memerintahkan untuk memakan (*lii ta'kulu*), mengeluarkan (*tastakhriju*), melihat (*wa taraa*) dan mencari (*li tabtaghu*) keuntungan dari karuniaNya yang sudah ada

di laut agar dapat mensyukuri segala nikmat dan karunia berupa luasnya lautan beserta isinya.

Salah satu potensi biota laut perairan Indonesia adalah makroalga atau dalam perdagangan dikenal sebagai rumput laut yang secara taksonomi dikelompokkan ke dalam divisi *Thallophyta*. Empat kelas dalam divisi *Thallophyta* adalah *Chlorophyceae* (alga hijau), *Phaeophyceae* (alga coklat), *Rhodophyceae* (alga merah) dan *Cyanophyceae* (alga biru-hijau) (Bengen, 2001).

Saat ini, alga laut baik yang liar maupun yang telah dibudidayakan secara tradisional banyak digunakan sebagai bahan makanan dan obat-obatan, karena kandungan di dalamnya seperti protein, lipid, vitamin dan mineral sangat penting bagi manusia (Norziah dan Ching, 2000). Berdasarkan penelitian sebelumnya didapatkan informasi bahwa alga berpotensi sebagai antivirus (Manilal, *et al.*, 2009), antibakteri (Izzati, 2007), antijamur (Khanzada, *et al.*, 2007), antitumor (Zandi, *et al.*, 2010) dan antioksidan (Lestario, dkk., 2008).

Ekstrak alga coklat jenis *Sargassum* menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan yang maksimal terhadap beberapa jenis bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhii*, dan *Escherichia coli*, dimana hal tersebut dapat diketahui setelah dilakukan suatu percobaan secara *in vitro* (Sastry dan Rao, 1994 dalam Alamsjah, 2011). Alga coklat *Sargassum* sp. memiliki kandungan Mg, Na, Fe, tanin, iodin dan fenol yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap beberapa jenis bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare (Sastry dan Rao, 1994 dalam Bachtiar, dkk., 2012). Menurut Muscthler (1991) penderita diare banyak menggunakan obat-

obatan yang berasal dari bahan kimia dan tanaman herbal, tetapi masih belum banyak penelitian yang menjadikan salah satu sumber hayati laut seperti rumput laut untuk dijadikan salah satu alternatif pengobatan diare.

Banyaknya penelitian yang menguji aktivitas suatu bahan alam sebagai obat khususnya antibakteri mempunyai tujuan penting, yaitu untuk mengurangi penggunaan bahan kimia yang berakibat pada resistensi obat. Penggunaan suatu bahan alam sebagai obat antibakteri alami memiliki kelebihan dibandingkan dengan antibakteri sintesis, karena mudah didapatkan dan efek samping yang ditimbulkan terhadap kesehatan umumnya relatif kecil. Selain itu, penggunaan antibiotik terhadap penyakit akibat gangguan mikroorganisme akan menyebabkan resistensi jika digunakan secara terus menerus.

Salah satu jenis bakteri yang merugikan manusia adalah bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Bakteri *E.coli* adalah kuman yang banyak ditemukan di usus besar manusia, akan tetapi kontaminasinya dapat menyebabkan diare. Organisme ini menjadi patogen bila mencapai jaringan di luar saluran pencernaan (usus) khususnya saluran air kemih, saluran empedu, dan paru-paru (Jawetz, *et al.*, 1996). Bakteri *S. aureus* dapat mengakibatkan infeksi kerusakan pada kulit atau luka pada organ tubuh jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh. Kedua jenis mikroorganisme yang akan digunakan sebagai bakteri uji ini merupakan jenis bakteri gram negatif dan bakteri gram positif.

Beberapa penelitian tentang pengujian aktivitas antibakteri telah banyak dilakukan. Uji antibakteri alga merah jenis *Eucheuma spinosum* menghasilkan daya hambat tertinggi sebesar 6 mm dan 5,5 mm pada pelarut petroleum eter, 4

mm dan 3 mm pada pelarut etil asetat, 3 mm dan 2,5 mm pada pelarut kloroform terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Miftahurrohmah, 2012). Penggunaan pelarut metanol menghasilkan zona hambat 3,5 mm dan 1,3 mm terhadap bakteri yang sama pada alga jenis *Eucheuma cottoni* (Muhimmah, 2013).

Adanya aktivitas antibakteri dari suatu bahan alam tentunya dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang berada di dalamnya. Senyawa metabolit sekunder yang diduga mempunyai aktivitas antibakteri adalah golongan flavonoid dan steroid (Alfiyaturohmah, 2013) serta golongan triterpenoid dan alkaloid (Miftahurrahmah, 2012).

Berdasarkan penelitian Alfiyaturohmah (2013), diketahui bahwa ekstrak kasar alga coklat *S. vulgare* mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi pada pelarut kloroform dengan konsentrasi ekstrak 1 % dan 10 %. Zona hambat yang dihasilkan sebesar 1,6 mm pada bakteri *E. coli* dan 1,8 mm pada bakteri *S. aureus*. Aktivitas tersebut masih tergolong lemah karena zona hambat yang dihasilkan kurang dari 5 mm (Yuningsih, 2007). Lemahnya aktivitas antibakteri tersebut dapat dipengaruhi oleh variasi konsentrasi yang digunakan (Pelczar dan Chan, 1986). Apabila konsentrasi ekstrak diperbesar, maka dapat menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih baik. Sebagaimana Bachtiar, dkk. (2012) yang menguji aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi 10 % sampai dengan 100 % dan diperoleh zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100 %, yaitu sebesar 18,6 mm.

Miftahurrahmah (2012) melakukan uji aktivitas antibakteri alga merah jenis *E. spinosum* dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan hidrolisis kemudian dipartisi dengan variasi pelarut. Pelarut yang digunakan untuk

partisi mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu 1-butanol, etil asetat, kloroform, petroleum eter dan *n*-heksana. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa aktivitas antibakteri ekstrak yang telah dihidrolisis lebih besar dibandingkan dengan ekstrak kasar sebelum dihidrolisis. Data yang diperoleh yaitu, zona hambat ekstrak hasil hidrolisis fraksi pelarut petroleum eter terhadap bakteri *E. coli* adalah 6 mm dan ekstrak metanol (sebelum dihidrolisis) adalah 3 mm. Sedangkan aktivitas terhadap bakteri *S. aureus* adalah 5,5 mm untuk fraksi pelarut petroleum eter dan 4 mm untuk pelarut metanol (sebelum dihidrolisis).

Menurut Tensiska, dkk. (2007) pada reaksi hidrolisis akan terjadi pemutusan hemiasetal dalam komponen glikon (polar/terikat gula) sehingga gugus glikosida (gula) dalam komponen glikon terlepas dan akhirnya komponen glikon berubah struktur menjadi komponen aglikon (nonpolar). Hidrolisis dapat dilakukan dengan cara merendam ekstrak kental hasil maserasi dengan HCl 2 N selama 2-3 jam (Asih, 2009). Penambahan asam kuat seperti HCl pada sistem reaksi hidrolisis akan berpengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton ( $H^+$ ) yang berpengaruh terhadap pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri ekstrak alga coklat jenis *S. vulgare* dengan adanya hidrolisis dan partisi. Pentingnya penelitian ini karena pada penelitian sebelumnya ditemukan potensi antibakteri dari alga coklat jenis *S. vulgare*. Penelitian ini dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi dan hidrolisis kemudian dipartisi menggunakan variasi pelarut organik yaitu etil asetat, kloroform dan petroleum eter.

Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh alternatif obat antibakteri sebagai salah satu pencegahan penyakit. Salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus* yang dapat menyebabkan diare dan infeksi luka. Dengan demikian, pemanfaatan sumber daya laut yaitu alga coklat yang sebelumnya kurang maksimal menjadi lebih maksimal dan masyarakat dapat memanfaatkan budidaya alga coklat menjadi lebih baik.

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Fraksi pelarut manakah dari hasil hidrolisis ekstrak metanol alga coklat *S. vulgare* yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*?
2. Apa saja golongan senyawa yang terdapat dalam alga coklat *S. vulgare* dari fraksi pelarut yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri tertinggi hasil hidrolisis ekstrak metanol alga coklat *S. vulgare* dari beberapa fraksi pelarut terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
2. Mengetahui golongan senyawa dalam alga coklat *S. vulgare* dari fraksi pelarut yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi.

#### 1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah alga coklat jenis *Sargassum vulgare* yang diperoleh dari pantai Kapong Pamekasan Madura.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi dengan metanol yang kemudian dipartisi menggunakan pelarut etil asetat, kloroform dan petroleum eter.
3. Metode pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram terhadap bakteri gram negatif *E. coli* dan bakteri gram positif *S. aureus*.
4. Identifikasi golongan senyawa dalam ekstrak alga coklat menggunakan uji reagen yaitu uji alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan tanin.
5. Pemisahan golongan senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis analitik (KLTA).

#### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri alga coklat jenis *S. vulgare* hasil hidrolisis.
2. Memberi informasi akademik mengenai potensi alga coklat jenis *S. vulgare* sebagai alternatif obat antibakteri alami.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kekayaan Laut Dalam Prespektif Islam

Kekayaan laut merupakan sumber daya alam yang tidak ternilai harganya. Laut adalah lambang dari kesuburan dan kemakmuran yang di dalamnya ditemukan potensi dan pemanfaatannya bagi keperluan manusia. Ibnu Katsir menjelaskan bahwa “penciptaan laut sebagai tempat penyimpanan yang tidak pernah kering merupakan nikmat yang besar dari Allah SWT. Laut tidak pernah kering dari sumber-sumber makanan yang merupakan hal mendasar dalam kehidupan semua bangsa. Kekayaan laut juga dapat dijadikan sebagai cadangan makanan untuk manusia” (Djamil, 2004).

Allah SWT berfirman dalam surat Faathir ayat 12 :

وَمَا يَسْتَوِي الْبَحْرَانِ هَذَا عَذْبٌ فُرَاتٌ سَائِغٌ شَرَابُهُ وَهَذَا مِلْحٌ أُجَاجٌ صَلَّى وَمِنْ كُلِّ تَأْكُلُونَ  
لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُونَ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا صَلَّى وَتَرَى الْفُلْكَ فِيهِ مَوَاحِرٍ لِيَتَّبِعُوا مِنْ فَضْلِهِ  
وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٢﴾.

*“Dan tiada sama (antara) dua laut; yang ini tawar, segar, sedap diminum dan yang lain asin lagi pahit. Dan dari masing-masing laut itu kamu dapat memakan daging yang segar dan kamu dapat mengeluarkan perhiasan yang dapat kamu memakainya, dan pada masing-masingnya kamu lihat kapal-kapal berlayar membelah laut supaya kamu dapat mencari karuniaNya dan supaya kamu bersyukur” (QS. Faathir : 12).*

Berdasarkan ayat di atas, Allah SWT menjelaskan tentang beberapa fungsi laut. Pertama, sebagai sumber makanan dan obat-obatan yang dapat diperoleh dari biota laut berupa ikan dan tumbuhan laut. Kedua, sebagai sumber perhiasan

seperti mutiara yang dapat diperoleh dari kerang. Ketiga sebagai sarana transportasi dimana manusia dapat berlayar dan menyebrangi lautan untuk berpindah dari satu pulau ke pulau yang lainnya. Firman Allah SWT di atas menegaskan tentang penciptaanNya atas alam raya ini serta memerintahkan agar memikirkannya untuk membuktikan tentang kekuasaanNya. Di akhir ayat tersebut Allah memerintahkan manusia agar dapat mencari karunia *لِيَتَّبِعُوا مِنْ فَضْلِهِ*. Manusia diberi keleluasaan oleh Allah untuk mencari karunia dari yang ada di laut dengan mengkaji ilmu dan pemanfaatan kekayaan laut yang salah satunya adalah rumput laut (alga). Dengan dilakukannya suatu penelitian biota laut, maka manusia bisa menambah hasanah keilmuannya dengan menemukan manfaat-manfaat lain dari limpahan ciptaan Allah yang ada di laut, sehingga manusia itu dilingkupi oleh rasa syukur *وَأَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ* terhadap karunia yang telah Allah SWT berikan.

Sesungguhnya dalam penciptaanNya berupa karunia itu terdapat tanda-tanda ke-Maha KuasaanNya. Berdasarkan firman Allah SWT QS Faathir ayat 12, Allah SWT menyebutkan bahwa antara dua laut tidaklah sama isinya. Dengan demikian dapat dianalogikan bahwa setiap subyek kelautan beserta isinya mempunyai ragam dan potensi yang berbeda. Kekayaan laut seperti alga pada setiap daerah akan mempunyai manfaat dan kandungan yang berbeda pula. Dalam penelitian ini digunakan alga coklat dari Pantai Kapong Pamekasan Madura yang potensi serta kandungannya tentu berbeda dengan alga yang diperoleh dari tempat lain meski dengan jenis yang sama. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan lingkungan geografis pada setiap daerah.

## 2.2 Alga Coklat *Sargassum* sp.

Kekayaan laut Indonesia memberikan keragaman biota yang hidup di dalamnya. Di perairan Indonesia terdapat 28 spesies alga coklat yang berasal dari 6 genus yaitu: *Dictyota*, *Padina*, *Hormophysa*, *Sargassum*, *Turbinaria*, dan *Hydroclathrus*. Alga coklat adalah kelompok alga yang secara umum berwarna coklat atau pirang (Atmadja, 1996). Jenis-jenis *Sargassum* sp. yang dikenal di Indonesia sekitar ada 12 spesies, yaitu: *S. duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. cristaefolium*, *S. microfylum*, *S. aquofylum*, *S. vulgare* dan *S. polyceratium* (Rachmat, 1999).

Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang seperti di Kepulauan Seribu, terutama di daerah rata pasir (*sand flat*). Daerah ini akan kering pada saat surut rendah, mempunyai dasar berpasir, secara sporadis terdapat pula pada karang hidup atau mati. Pada batu-batu inilah rumput laut coklat tumbuh dan melekat (Atmadja dan Soelistijo, 1988).

Ciri-ciri umum dari *Sargassum* adalah bentuk talus umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong, atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*), panjang umumnya mencapai 7 meter (di Indonesia terdapat 3 spesies yang panjangnya 3 meter), warna talus umumnya coklat (Kadi, 1988). *Sargassum* biasanya dicirikan oleh tiga sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesisnya terhimpun dalam bentuk laminaran dan alginat serta adanya flagel (Tjondronegoro, dkk, 1989). Berikut adalah gambar alga coklat *Sargassum* sp. :



Gambar 2.1 *Sargassum* sp.

### 2.3 Taksonomi Alga Coklat *Sargassum vulgare*

Klasifikasi atau taksonomi alga coklat *S. vulgare* (Guiry, 2005):

Divisi	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Bangsa	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum vulgare</i>

*Sargassum vulgare* mempunyai nama lain *Sargassum megalohillum* Montagne (Guiry, 2005). Morfologi alga ini antara lain mempunyai batang utama silindris pendek sekitar 1 cm dan diameter 3 mm. Daunnya memanjang lurus pinggirnya bergelombang. *S. vulgare* berwarna coklat gelap dan ditemukan pada substrat berbatu di zona infra-litoral hingga kedalaman 5-50 mm (Harvey, 2009). Pigmen alga coklat terkandung dalam plasmid, memiliki dinding sel lapisan luar dari bahan pektin (terutama alginat) sedangkan lapisan dalam dari bahan selulosa. Kebanyakan spesies mempunyai kantong udara (*Bladder*) (Bachtiar, 2007).

## 2.4 Manfaat dan Kandungan Alga Coklat

Pemanfaatan alga coklat secara komersial belum banyak dilakukan. Namun dewasa ini sudah mulai lebih diperhatikan untuk diteliti dan dimanfaatkan sebagai penghasil algin atau alginat, bahan campuran es krim, obat-obatan dan sebagai makanan ternak (Kahispama, 2011). Peranan lain adalah sebagai antibakteri, antioksidan, antitumor dan antikanker (Bachtiar, 2007).

Rumput laut coklat dalam pengobatan secara tradisional dimanfaatkan sebagai suplemen makanan bagi penderita penyakit gondok. Hal ini disebabkan oleh kandungan iodnya yang tinggi terutama pada jenis *Fucus vesiculosus*, *Ascophyllum* dan *Laminaria*. Penelitian Putri (2011) menggunakan alga coklat *Sargassum* sp. sebagai serbuk minuman untuk melangsingkan tubuh.

Komposisi kimia *Sargassum* menurut Yunizal (2004) antara lain: karbohidrat 19,06 %; protein 5,53 %; lemak 0,74 %; air 11,71 %; abu 34,57 % dan serat kasar 28,39 %. *Sargassum* sp. mengandung bahan alginat dan iodin yang banyak dimanfaatkan oleh industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Kadi, 2008). Kemampuan ekstrak alga coklat *Sargassum* sp. dalam bidang farmasi adalah menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dapat dilihat pada kemampuannya dalam mengatasi penyakit diare (Bachtiar, 2012).

Kandungan vitamin dalam 100 gram alga secara umum dapat mencukupi kebutuhan tubuh terhadap vitamin A, B2, B12 dan 67 % dari vitamin C, sodium, potassium dan magnesium (Chapman, 1970). Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam alga coklat sudah banyak diteliti, hasilnya antara lain kandungan steroid, alkaloid, fenol dan vitamin (Rachmat, 1999). Penelitian lain juga

menyebutkan bahwa alga coklat mengandung senyawa flavonoid dan steroid (Alfiyaturrohmah, 2013).

Banyak penelitian yang menyebutkan adanya bioaktivitas pada semua jenis alga coklat. Alfiyaturrohmah (2013) pada penelitiannya menghasilkan data aktifitas antibakteri alga coklat jenis *S. vulgare* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat tertinggi sebesar 1,8 mm dan 1,6 mm. Zona hambat ini diperoleh pada konsentrasi 1 % dan 10 %. Adanya aktivitas antibakteri tersebut diduga berasal dari adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam alga coklat tersebut.

## 2.5 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah proses penarikan atau pengeluaran suatu komponen atau zat aktif suatu bahan alam dengan menggunakan pelarut tertentu, cairan dipisahkan, kemudian diuapkan pelarutnya (Mulyono, 2006). Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Ekstraksi digolongkan ke dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair, ekstraksi padat-cair terdiri dari beberapa metode yaitu maserasi, perkolasi dan ekstraksi sinambung (Harborne, 1987).

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana (Ansel, 1989). Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara

larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, dengan demikian zat aktif didesak ke luar. Pada ekstraksi maserasi perlu dilakukan pengadukan yang bertujuan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk, sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Habibah, 2012).

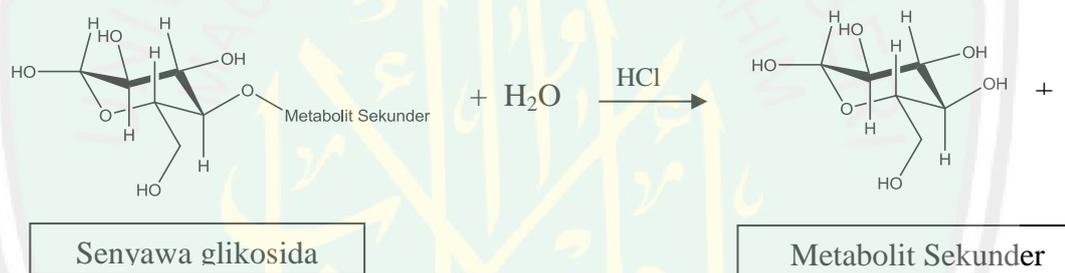
Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut yang akan digunakan (Lenny, 2006). Secara umum pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik dari bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Darwis, 2000). Pemilihan pelarut yang tepat hendaknya memiliki kriteria sebagaimana berikut: memiliki titik didih yang cukup rendah agar pelarut dapat dengan mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, dapat melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006).

## 2.6 Hidrolisis

Hidrolisis adalah reaksi yang terjadi antara suatu senyawa dan air dengan membentuk reaksi kesetimbangan. Selain bereaksi, air juga berperan sebagai medium reaksi sedangkan senyawanya dapat berupa senyawa anorganik maupun senyawa organik (Mulyono, 2006). Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida. Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat

polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar maupun non polar (Gunawan, 2004).

Reaksi hidrolisis yang menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator (seperti asam). Katalisator asam yang sering digunakan dalam industri adalah asam klorida (HCl) karena garam yang terbentuk tidak berbahaya yaitu NaCl. Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida antara metabolit sekunder (glikon) dari gugus gula (aglikon) yang terjadi ketika penambahan HCl ditunjukkan pada Gambar 2.2 (Nihlati, dkk., 2008):



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Nihlati, dkk., 2008)

Pengaruh penambahan asam (kuat atau lemah) pada sistem reaksi hidrolisis akan berpengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton dari asam tersebut sehingga proton tersebut akan membantu dalam pemutusan ikatan glikosida. Semakin banyak proton yang terionisasi dalam air, maka semakin kuat peranan proton tersebut terhadap pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006). Dengan demikian, maka penggunaan asam klorida yang merupakan asam kuat lebih sering digunakan.

## 2.7 Ekstraksi Cair-cair (Partisi)

Ekstraksi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia di antara dua fase pelarut (pelarut organik dan air) yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Selanjutnya kedua fase yang mengandung zat terdispersi dilakukan pengocokan beberapa kali dan didiamkan hingga terjadi pemisahan secara sempurna dan membentuk dua lapisan fase cair. Senyawa kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Dinda, 2008).

Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu. Kesempurnaan ekstraksi tergantung pada banyaknya ekstraksi yang dilakukan. Hasil yang baik diperoleh apabila jumlah ekstraksi yang dilakukan berulang-ulang dengan penambahan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar, 2003).

## 2.8 Uji Gula Reduksi Metode DNS (3,5-dinitrosalisilat)

Sebagian besar karbohidrat, terutama golongan monosakarida dan disakarida seperti glukosa, fruktosa, galaktosa dan laktosa mempunyai sifat mereduksi. Sifat mereduksi dari karbohidrat tersebut disebabkan oleh adanya gugus aldehida atau gugus keton bebas (Daud dkk., 2012). Salah satu metode pengujian kadar glukosa yaitu metode DNS. Metode ini digunakan untuk mengukur gula pereduksi dengan teknik kolorimetri. Teknik kolorimetri ini hanya dapat mendeteksi satu gula pereduksi, dalam hal ini yaitu glukosa. Prinsip metode

ini adalah dalam suasana alkali gula pereduksi akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) membentuk senyawa yang akan diukur absorbansinya. Glukosa memiliki gugus aldehida, sehingga dapat dioksidasi menjadi gugus karboksil. Gugus aldehida yang dimiliki oleh glukosa akan dioksidasi oleh asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi gugus karboksil dan menghasilkan asam 3-amino-5-nitrosalisilat pada kondisi basa dengan suhu 90-100 °C. Senyawa ini dapat dideteksi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm (Bintang, 2010).

## 2.9 Bakteri

Nama bakteri berasal dari bahasa Yunani "*bacterium*" yang berarti batang. Saat ini, nama tersebut digunakan untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu. Tubuhnya bersifat prokariotik, yaitu terdiri atas sel yang tidak mempunyai pembungkus inti. Bakteri berkembang biak dengan membelah diri, karena begitu kecil maka hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop. Bakteri walaupun bersel satu tetapi mempunyai beberapa organel yang dapat digunakan untuk melaksanakan beberapa fungsi hidup (Waluyo, 2004).

Salah satu komponen penting penyusun sel bakteri adalah peptidoglikan. Peptidoglikan ini memberikan bentuk dan menyebabkan kakunya dinding sel. Susunan kimiawi dan struktur peptidoglikan khas untuk setiap bakteri, sehingga perbedaan pada dinding sel inilah yang dimanfaatkan dalam mengelompokkan bakteri berdasarkan teknik pewarnaan gram. Berdasarkan teknik tersebut bakteri

dibagi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Pelczar dan Chan, 1986).

Tabel 2.1 Perbedaan relatif bakteri gram positif dan gram negatif

Sifat	Perbedaan Relatif	
	Bakteri Gram Positif	Bakteri Gram Negatif
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1 – 4 %)	Kandungan lipid tinggi (11 – 22 %)
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih sensitif	Lebih tahan
Penghambatan oleh pewarna basa	Lebih dihambat	Kurang dihambat
Kebutuhan nutrisi	Kebanyakan spesies relatif kompleks	Kebanyakan spesies relatif sederhana
Ketahanan terhadap perlakuan fisik	Lebih tahan	Kurang tahan

Sumber : Pelczar dan Chan, 1986

Bakteri gram positif yaitu bakteri yang pada pengecatan gram tetap mengikat warna cat pertama (gram A) karena tahan terhadap alkohol dan tidak mengikat warna cat yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri berwarna ungu. Bakteri gram negatif yaitu bakteri yang pada pengecatan gram warna cat yang pertama (gram A) dilunturkan karena tidak tahan terhadap alkohol dan mengikat warna yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri berwarna merah (Pelczar dan Chan, 1986).

### 2.9.1 Bakteri Gram Positif

Salah satu contoh bakteri gram positif adalah bakteri *S. aureus*. Adapun klasifikasi bakteri *S. aureus* adalah sebagai berikut (Salle, 1961):

Divisi	: Prothopyta
Subdivisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae  
 Genus : Staphylococcus  
 Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.3 *Staphylococcus aureus* (Anonim, 2007).

*Staphylococcus aureus* termasuk bakteri gram positif, berbentuk bulat, berdiameter 0,1–1,5  $\mu\text{m}$ . *S. aureus* susunan selnya ada yang tunggal atau berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur (Pelczar dan Chan, 1986). *S. aureus* tumbuh di media padat seperti agar-agar nutrisi sebagai koloni yang bulat berwarna keemasan atau putih mengkilap. Infeksi *S. aureus* tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut atau abses. Selain itu, bakteri ini juga menyebabkan reaksi infeksi yang kuat, terlokalisir dan nyeri (Jawetz, *et al.*, 1996).

### 2.9.2 Bakteri Gram Negatif

Salah satu contoh bakteri gram negatif adalah bakteri *E. coli*. Adapun klasifikasi bakteri *E. coli* adalah sebagai berikut (Salle, 1961) :

Divisi : Protophyta  
 Subdivisi : Schizomycetea  
 Kelas : Schizomycetes  
 Ordo : Eubacteriales  
 Famili : Enterobacteriaceae  
 Genus : Escherichia  
 Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 2.4 *Escherichia coli* (Anonim, 2007).

*Escherichia coli* merupakan kuman berbentuk batang pendek (koko basil) gram negatif, ukuran  $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$ . *E. coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi pada media yang digunakan untuk isolasi kuman enterik. Sebagian besar *E. coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. *E. coli* bersifat *mikroaerofilik* (Pelczar dan Chan, 1986).

Tempat yang paling sering terkena infeksi *E. coli* adalah saluran kemih, saluran empedu dan tempat-tempat lain di rongga perut. Bakteri ini juga menghasilkan enterotoksin penyebab diare. *E. coli* memproduksi enterotoksin yang tahan panas dapat menyebabkan diare yang ringan, sedangkan enterotoksin yang tidak tahan panas dapat menyebabkan sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus, menghambat reabsorpsi natrium (Jawetz, *et al.*, 1996).

### 2.9.3 Media Pertumbuhan Bakteri

Untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroorganisme diperlukan suatu media. Media harus mengandung semua zat yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya, antara lain senyawa organik (protein, karbohidrat, lemak), mineral dan vitamin. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi yang ada di dalam media berupa senyawa kecil yang

diformulasikan untuk menyusun komponen sel (Maunatin, 2013). Media terbagi menjadi 2 golongan besar yaitu media hidup dan media mati (Waluyo, 2004):

#### 1. Media hidup

Media hidup pada umumnya dipakai dalam laboratorium virologi untuk pembiakan berbagai virus, sedangkan dalam laboratorium bakteriologi hanya beberapa kuman tertentu saja terutama pada hewan percobaan. Contoh media hidup: telur berembrio, sel-sel biakan bakteri tertentu untuk penelitian bakteriofage (Waluyo, 2004).

#### 2. Media mati

Media mati terbagi menjadi beberapa macam, yakni (Waluyo, 2004):

##### a) Media padat

Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar. Agar berasal dari ganggang/alga yang berfungsi sebagai bahan pematat. Alga digunakan karena bahan ini tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu di atas 45 °C. Media padat terbagi menjadi media agar miring, dan agar deep.

##### b) Media setengah padat

Media setengah padat dibuat dengan bahan yang sama dengan media padat, akan tetapi berbeda komposisi agarnya. Media ini digunakan untuk melihat gerak kuman secara mikroskopik.

##### c) Media cair

Media cair juga dikenal sebagai media sintetik. Media sintetik merupakan media yang mempunyai kandungan dan isi bahan yang telah diketahui

secara rinci. Media sintetik sering digunakan untuk mempelajari sifat genetika mikroorganismenya.

## **2.10 Uji Aktivitas Antibakteri**

### **2.10.1 Antibakteri**

Antibakteri dalam definisi yang luas diartikan suatu zat yang dapat mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Mikroorganismenya dapat dihambat atau dibunuh dengan proses fisik dan kimia. Cara kerja antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1986).

Pelczar dan Chan (1986) juga mengatakan bahwa makin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba akan semakin cepat sel mikroorganismenya terbunuh atau terhambat pertumbuhannya. Aktivitas antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, jumlah mikroorganismenya, keasaman atau kebasaan (pH), potensi suatu zat antimikroba dalam larutan yang diuji dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi antibakteri.

### **2.10.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa untuk dapat memberikan efek bagi mikroorganismenya (Dart, 1996 dalam Ayu, 2004). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan untuk mengetahui sejauh mana aktivitas suatu bakteri terhadap

antibakteri. Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi.

#### 1. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antibakteri dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Keuntungan mikrodilusi cair adalah uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan (Jawetz, *et al.*, 1996).

#### 2. Metode Difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung senyawa antibakteri tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih/bening di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Jawetz, *et al.*, 1996).

Tabel 2.2 Ketentuan kekuatan antibakteri

Daerah Hambatan	Ketentuan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

Sumber : Davis dan Stout, 1971 dalam Yuningsih, 2007

### 2.10.3 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Di bidang farmasi bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibiotik bervariasi. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteristatik, bakterisidal, dan bakterilitik (Pelczar dan Chan, 1986). Mekanisme kerja senyawa antibakteri dapat terjadi melalui penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat dan merusakkan struktur membran sel bakteri (Volk dan Wheeler, 1993).

#### a. Penghambatan sintesis dinding sel

Beberapa senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat terjadinya reaksi peptidasi pada proses sintesis peptidoglikan sehingga dapat melemahkan dinding sel yang dapat membuat terjadi lisis (Volk dan Wheeler, 1993).

#### b. Penghambatan sintesis protein

Proses penghambatan pertumbuhan bakteri melalui penghambatan sintesis protein dapat terjadi dengan cara menghambat terjadinya proses

peptidiltransferase yang dapat mengganggu proses pengikatan asam amino baru pada rantai peptida yang sedang terbentuk (Volk dan Wheeler, 1993).

c. Penghambatan sintesis asam nukleat

Pada umumnya, antibakteri dapat menghambat sintesis asam nukleat dengan cara berinteraksi dengan benang heliks ganda DNA dengan cara mencegah replikasi atau transkripsi berikutnya dan berkombinasi dengan polimerase yang terlibat dalam biosintesis DNA atau RNA (Volk dan Wheeler, 1993).

d. Perusakan struktur membran sel

Beberapa senyawa antibakteri dapat mempengaruhi sifat semipermeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kerusakan struktur membran yang dapat menghambat atau merusak kemampuan membran sel sebagai penghalang osmosis dan juga mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang dibutuhkan di dalam membran sel (Volk dan Wheeler, 1993).

#### 2.10.4 Penentuan Jumlah Bakteri

Analisis kuantitatif mikrobiologi sangat penting dilakukan untuk mengetahui berapa total bakteri yang dihambat pertumbuhannya karena berkaitan dengan seberapa besar ekstrak mempunyai daya hambat terhadap bakteri uji. Beberapa cara dapat digunakan untuk menghitung jumlah jasad renik di dalam suatu suspensi atau bahan, yaitu dengan hitungan mikroskopik, hitungan cawan dan MPN (*Most Probable number*) (Cahyadi, 2009). Prinsip metode hitungan cawan yaitu jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak membentuk koloni yang

dapat dilihat secara langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Fardiaz, 1992).

Metode hitungan cawan ini sering dilakukan dengan cara pengenceran bakteri. Pengenceran bakteri dilakukan pada beberapa tabung yang berisi akuades sebanyak 9 mL. Pada tabung pertama diisi 1 mL larutan biakan aktif bakteri kemudian dihomogenkan sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi  $10^{-1}$ . Larutan konsentrasi  $10^{-2}$  dibuat dengan cara 1 mL larutan dari tabung pertama dipipet dan dimasukkan pada tabung kedua. Demikian seterusnya sehingga didapat larutan dengan konsentrasi terendah yang dikehendaki (Harmita, 2008).

Perhitungan bakteri dilakukan dengan cara dari setiap tabung diambil 1 mL larutan dan ditanamkan ke dalam cawan petri yang berisi media padat. Pertumbuhan koloni kuman atau bakteri yang terjadi pada setiap cawan dihitung jumlahnya setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Koloni yang dipilih untuk dihitung menggunakan metode hitungan cawan memiliki syarat khusus berdasarkan statistik untuk memperkecil kesalahan dalam perhitungan. Syarat-syaratnya adalah sebagai berikut (Irianto, 2006) :

1. Pilih cawan yang ditumbuhi koloni dengan jumlah 30-300 koloni.  $> 300 =$  TNTC (*Too Numerous To Count*) atau TBUD (*Terlalu Banyak Untuk Dihitung*).  $< 30 =$  TFTC (*Too Few To Count*). Syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut:
  - a) Satu koloni dihitung 1 koloni.
  - b) Dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni.
  - c) Beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni.

- d) Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni.
  - e) Koloni yang terlalu besar (lebih besar dari setengah luas cawan) tidak dihitung.
  - f) Koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung 1 koloni.
2. Jumlah koloni yang dilaporkan terdiri dari 2 digit yaitu angka satuan dan angka sepersepuluh yang dikalikan dengan kelipatan 10 (eksponensial).
  3. Bila diperoleh perhitungan  $< 30$  dari semua pengenceran, maka hanya dari pengenceran terendah yang dilaporkan.
  4. Bila diperoleh perhitungan  $< 300$  dari semua pengenceran, maka laporannya adalah 300 kali 1/faktor pengenceran dengan menuliskan hasil yang sebenarnya.
  5. Bila ada dua cawan, masing-masing dari pengenceran rendah dan tinggi yang berurutan dengan jumlah koloni 30-300 dan hasil bagi dari jumlah koloni pengenceran tertinggi dan terendah  $\leq 2$ , maka jumlah yang dilaporkan adalah nilai rata-rata. Jika hasil bagi dari pengenceran tertinggi dan terendah  $> 2$ , maka jumlah yang dilaporkan adalah dari cawan dengan pengenceran terendah.

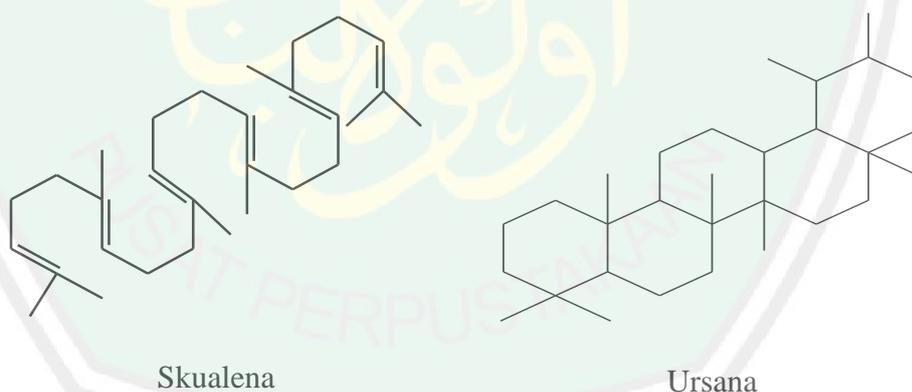
### 2.11 Uji Fitokimia

Tumbuhan umumnya mengandung golongan senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, triterpenoid dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang

umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

### 2.11.1 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida (Robinson, 1995). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon  $C_{30}$  asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat (Harborne, 1987).



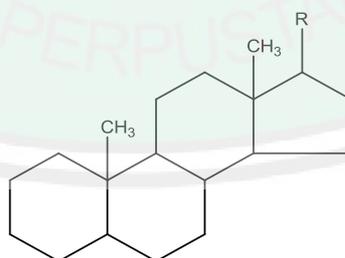
Gambar 2.5 Struktur senyawa triterpenoid (Robinson, 1995)

Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa triterpenoid yang akan menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Bawa (2009) menyebutkan bahwa isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua. Triterpenoid

dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2008).

### 2.11.2 Steroid

Steroid (C<sub>27</sub>) adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana (Harborne, 1987). Steroid atau sterol adalah triterpenoid yang mempunyai bentuk dasar siklopentana perhidrofenantren yang biasanya larut dalam pelarut yang kurang polar. Semua sterol diduga hanya ada pada binatang, namun sekarang telah diketahui bahwa sterol juga terdapat dalam tumbuhan (*fitosterol*). Fitosterol ini berbeda secara struktural dengan sterol binatang. Perbedaannya terutama pada substitusi gugus metil dan etil (Febriany, 2004). Senyawa sterol yang lainnya terdapat pada tumbuhan tingkat rendah, tapi juga ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, misalnya fukosterol, yaitu steroid utama pada ganggang coklat, namun juga dideteksi pada kelapa (Harborne, 1987).



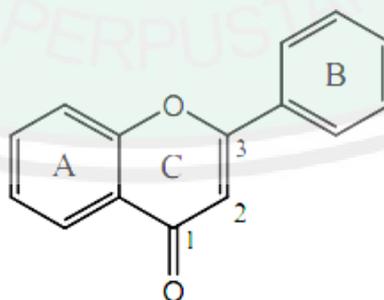
Gambar 2.6 Struktur inti senyawa steroid (Poedjadi, 1994)

Indrayani, dkk. (2006) dalam penelitiannya melakukan partisi secara berturut-turut terhadap ekstrak metanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis L. Vahl*) dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, kloroform dan etil

asetat. Hasil uji fitokimia pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa seluruh fraksi pelarut yang digunakan mengandung senyawa steroid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan. Uji kandungan steroid dilakukan dengan cara ekstrak dilarutkan dalam 0,5 mL klorofom dan ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrida. Kemudian ditambahkan 1-2 mL larutan asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi.

### 2.11.3 Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen ( $C_6$ ) terikat pada suatu rantai propana ( $C_3$ ) sehingga membentuk suatu susunan  $C_6-C_3-C_6$  (Lenny, 2006). Perlu diperhatikan bahwa cincin A selalu memiliki gugus hidroksil yang letaknya sedemikian hingga memberikan kemungkinan untuk terbentuknya cincin heterosiklis dalam senyawa trisiklis seperti yang ditunjukkan pada gambar di bawah ini. Flavonoid dapat digolongkan sebagai fenol karena biasanya cincin A dan B mengandung gugus hidroksil (Sastrohamidjojo, 1996).



Gambar 2.7 Struktur dasar senyawa flavon (Sastrohamidjojo, 1996)

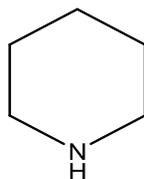
Sebagian besar senyawa flavonoid di alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah

kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006). Flavonoid dapat direduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga (Sastrohamidjojo, 1996). Reaksi tersebut ditandai dengan diperolehnya hidrogen pada molekul flavonoid (Fessenden, 1982).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Volk dan Wheeler, 1993).

#### 2.11.4 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).



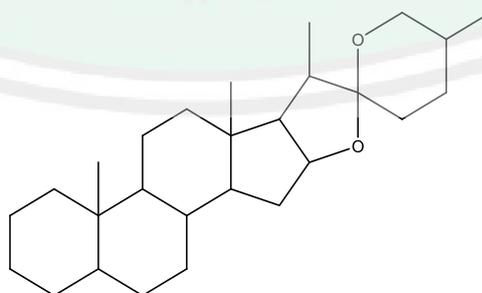
Gambar 2.8 Struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Uji alkaloid untuk menunjukkan adanya alkaloid dilakukan dengan menggunakan beberapa pereaksi alkaloid, diantaranya adalah pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) dan Dragendorff (Robinson, 1995). Kedua pereaksi tersebut memberikan warna berturut-turut coklat dan jingga.

Senyawa alkaloid ini berpotensi untuk digunakan sebagai antibakteri. Menurut Robinson (1995) mekanisme penghambatan bakteri oleh alkaloid yaitu alkaloid dapat mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.

#### 2.11.5 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif yang permukaannya kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air pada konsentrasi yang rendah dan sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam asam atau menggunakan enzim (Robinson, 1995).



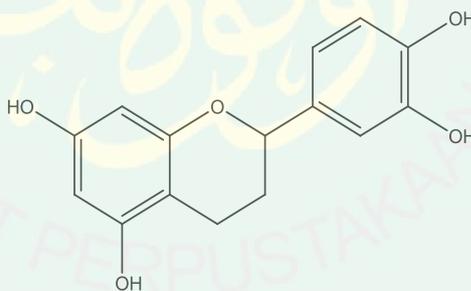
Gambar 2.9 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

Saponin memiliki kegunaan dalam pengobatan karena sifatnya yang mempengaruhi absorpsi zat aktif secara farmakologi. Beberapa jenis saponin

bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995). Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel mikroba yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida (Ganiswarna, 1995).

#### 2.11.6 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Harborne, 1987).



Gambar 2.10 Struktur senyawa tanin (Robinson,1995)

Diduga tanin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, maka sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Alamsjah, 2011).

## 2.12 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Salah satu metode pemisahan adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT), metode ini merupakan salah satu jenis kromatografi yang prinsip pemisahannya berdasarkan proses adsorpsi. Lapisan yang dipisahkan terdiri atas fasa diam dan fasa gerak (Vogel, 1989). Fasa diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapisi pada lempeng kaca atau aluminium. Fase gerak atau larutan pengembang biasanya digunakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik-anorganik (Gritter, 1991). Uji identifikasi dapat dilakukan dengan membandingkan nilai Rf yang diperoleh dengan Rf standar.

$$R_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}} \dots\dots\dots (2.1)$$

Untuk meyakinkan identifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan lebih dari 1 fase gerak dan jenis pereaksi semprot. Sedang fase geraknya adalah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Pemisahan optimal dapat diperoleh jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil dan sesempit mungkin (Gandjar dan Rohman, 2007). Tahap selanjutnya adalah mengembangkan sampel dalam suatu bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan uap fase gerak

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia, fisika dan biologi. Cara kimia yang dapat digunakan adalah mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi. Lempeng KLT disemprot dengan reagen kromogenik yang akan

bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna (Gandjar dan Rohman, 2007).

Cara fisika dilakukan dengan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi akan membuat bercak akan terlihat lebih jelas. Jika senyawa tidak dapat berfluoresensi maka bahan penyerapnya akan diberi indikator yang berfluoresensi, dengan demikian bercak akan kelihatan hitam sedang latar belakangnya akan terlihat berfluoresensi (Gadjar dan Rohman, 2007). Sinar UV yang digunakan pada umumnya pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Menurut Sudjadi (1988) sinar UV pada panjang gelombang 254 nm akan menampakkan lempeng yang berfluoresensi dengan warna hijau sedangkan noda akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Sinar UV pada panjang gelombang 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh ausokrom yang ada pada noda tersebut.

Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Sehingga noda yang tampak saat deteksi lampu UV pada panjang gelombang 366 nm terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada panjang gelombang 366 nm (Sudjadi, 1988).

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2014 di Laboratorium Kimia Organik dan Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat yang digunakan blender, gunting, pisau, oven, neraca analitik, seperangkat alat gelas, *rotary evaporator vacumm*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, spektrofotometer, spatula, gelas arloji, cawan petri, cawan penguap, tabung reaksi, kertas saring, kertas cakram, kapas, *shaker*, botol media, jarum ose, inkubator, pinset, autoklaf, bunsen, mikro pipet, plat KLT silika gel F<sub>254</sub> dan penggaris.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga coklat jenis *Sargassum vulgare*. Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi adalah metanol p.a. Pelarut untuk partisi adalah etil asetat, kloroform dan petroleum eter, HCl 2 N, Na-bikarbonat, standar glukosa dan reagen DNS. Uji antibakteri menggunakan bahan-bahan sebagai berikut : media nutrien agar padat (NA), media nutrient cair (NB), etanol, kertas saring Wathman, aquades steril, alumunium foil, biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, penisilin dan streptomisin.

Uji reagen menggunakan bahan-bahan sebagai berikut: reagen Dragendorf, reagen Mayer, serbuk logam Mg, metanol 50 %, kloroform, HCl 2 %, HCl 1 N, asam asetat anhidrat, larutan gelatin, dan asam sulfat pekat. Identifikasi dengan KLT menggunakan bahan-bahan: *n*-heksana, aseton, pereaksi Lieberman-Buchard dan etil asetat.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel yang digunakan adalah alga coklat *S. vulgare*. Sampel dicuci bersih dan dikeringkan dalam oven pada suhu 37 °C selama 24 jam, setelah kering diblender untuk memperluas permukaan sampel dan diayak menggunakan ayakan ukuran 80-100 mesh. Kemudian dilakukan uji kadar air dan kadar garam. Pada proses ekstraksi serbuk sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian diekstraksi maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut metanol p.a dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Seluruh ekstrak dikumpulkan menjadi satu kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacumm*. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dibagi menjadi dua bagian, yaitu untuk diuji aktivitas antibakteri dan yang sebagian lagi dihidrolisis dengan HCl 2 N kemudian dinetralkan dengan Na-bikarbonat. Kemudian dipartisi dengan pelarut etil asetat, kloroform dan petroleum eter dan ekstrak hasil partisi masing-masing dihitung nilai rendemennya. Seluruh fraksi lapisan air hasil partisi diuji kadar gula reduksinya menggunakan metode Dinitrosalisilat (DNS) dan diulangi langkah yang sama pada ekstrak pekat sebelum dihidrolisis. Sedangkan lapisan organik digunakan

untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan variasi konsentrasi yaitu :

$$K_1 = 0,1 \%, \quad K_4 = 5 \%$$

$$K_2 = 1 \%, \quad K_5 = 7,5 \%$$

$$K_3 = 2,5 \%, \quad K_6 = 10 \%$$

Kemudian diuji reagen untuk mengetahui adanya golongan senyawa dalam alga coklat *S. vulgare* dan dilanjutkan dengan KLTA.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air
3. Analisis kadar garam
4. Ekstraksi sampel menggunakan pelarut metanol
5. Hidrolisis dengan HCl 2 N
6. Partisi menggunakan pelarut etil asetat, kloroform, dan petroleum eter
7. Uji kadar gula reduksi menggunakan metode DNS
8. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram
9. Identifikasi golongan senyawa dalam ekstrak kasar dan hasil partisi
10. Pemisahan senyawa dengan KLTA
11. Analisis data

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Preparasi Sampel

Alga coklat *S. vulgare* segar dicuci terlebih dahulu, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven pada suhu 37-38 °C. Kemudian sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk. Selanjutnya serbuk diayak menggunakan ayakan ukuran 60-100 mesh.

#### 3.5.2 Analisis Kadar Air

Dipanaskan cawan dalam oven pada suhu 105 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator selama 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan diulangi sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel alga coklat *S. vulgare* yang sudah dihaluskan sebelumnya diambil 5 gram dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar air di dalam sampel. Kemudian cawan berisi sampel didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Sampel dalam cawan tersebut dipanaskan kembali dalam oven selama 15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai diperoleh berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan persamaan dibawah ini:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : a= berat konstan cawan kosong  
 b= berat cawan+sampel sebelum dikeringkan  
 c= berat konstan cawan+sampel setelah dikeringkan

### 3.5.3 Analisis Kadar Garam

Sampel dihaluskan secukupnya, lalu ditimbang sebanyak 5 gram kemudian diekstrak menggunakan aquades panas sebanyak 10 mL dan diaduk selama 10 menit. Ekstraksi diulangi sebanyak 10 kali agar garam dalam sampel larut dalam aquades. Kemudian disaring menggunakan penyaring *vacumm buchner* agar proses penyaringan lebih maksimal. Filtrat ditampung dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian diukur kadar garamnya sebanyak empat kali pengukuran dengan menggunakan alat Salinometer Atago PAL-06S Refraktometer, yaitu dengan cara mengkalibrasi alat menggunakan blangko aquades, kemudian larutan sampel diteteskan pada lempengan alat tersebut dan dilakukan pembacaan. Perlakuan ini diulangi kembali untuk serbuk alga coklat kering, namun sebelum dikeringkan alga yang masih segar dicuci terlebih dahulu dengan air sampai bersih.

### 3.5.4 Ekstraksi Sampel

Serbuk alga coklat kering ditimbang sebanyak 200 gram. Kemudian diekstraksi menggunakan 600 mL metanol p.a dan diaduk menggunakan *shaker* selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya, dilakukan penyaringan sehingga diperoleh filtrat dan residu. Residu yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak tiga kali pengulangan dengan pelarut dan perlakuan yang sama, kemudian disaring. Ketiga filtrat yang diperoleh selanjutnya digabung menjadi satu kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* sehingga diperoleh ekstrak pekat. Kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.2)$$

Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dibagi menjadi dua bagian. Bagian I untuk diuji aktivitas antibakteri dan analisis gula reduksi (ekstrak metanol kasar) dan bagian II untuk dihidrolisis. Hidrolisis dilakukan dengan cara menyiapkan 3 wadah, yaitu A, B dan C kemudian masing-masing wadah diisi dengan ekstrak pekat sebanyak 7 gram. Kemudian setiap ekstrak dalam wadah ditambahkan 14 mL larutan HCl 2 N dan diaduk menggunakan *magnetic stirer* pada suhu ruang selama 1 jam (Tensiska, dkk., 2007). Hidrolisat yang diperoleh ditambahkan NaHCO<sub>3</sub> sampai pHnya netral (pH 7), kemudian dipartisi dengan variasi pelarut organik yaitu: etil asetat, kloroform dan petroleum eter masing-masing sebanyak 25 mL. Dari hasil partisi akan diperoleh dua lapisan, lapisan organik digunakan untuk uji antibakteri dan identifikasi golongan senyawa sedangkan lapisan air digunakan untuk uji kadar gula reduksi.

### 3.5.5 Uji Kadar Gula Reduksi dengan Metode DNS

#### 3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum

Dibuat larutan glukosa standar dengan konsentrasi 10 ppm. Diambil sebanyak 1 mL lalu tambahkan 1 mL reagen DNS. Kemudian larutan divorteks dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Dalam keadaan panas ditambah 1 mL larutan KNa-Tartrat dan ditandabatkan dalam labu ukur 10 mL. Didinginkan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer spectronic 20 pada panjang gelombang 500-560 nm untuk mendapatkan panjang gelombang optimumnya.

### **3.5.5.2 Pembuatan Kurva Standar**

Dibuat larutan glukosa standar dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. Masing-masing larutan diambil 1 mL, lalu tambahkan 1 mL reagen DNS. Kemudian larutan divorteks dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Dalam keadaan panas ditambah 1 mL larutan KNa-Tartrat dan ditandabatkan dalam labu ukur 10 mL. Didinginkan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer spectronic 20 pada panjang gelombang optimum. Data hubungan konsentrasi standar dan absorbansi dibuat sebagai kurva standar.

### **3.5.5.3 Analisis Gula Reduksi Ekstrak Sebelum dan Setelah Hidrolisis**

Masing-masing lapisan air hasil partisi dan ekstrak pekat metanol sebelum dihidrolisis diambil 1 mL, lalu tambahkan 1 mL reagen DNS. Kemudian larutan divorteks dan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Dalam keadaan panas ditambah 1 mL larutan KNa-Tartrat dan ditandabatkan dalam labu ukur 10 mL. Didinginkan hingga suhu ruang dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer spectronic 20 pada panjang gelombang optimum. Nilai pengukuran yang diperoleh diplot ke dalam kurva standar.

## **3.5.6 Uji Antibakteri**

### **3.5.6.1 Sterilisasi Alat**

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara menutup alat-alat yang akan disterilkan dengan aluminium foil atau kapas, lalu dimasukkan ke dalam autoklaf kemudian diatur suhu pada 121 °C dan tekanan 15 psi (*per square inci*) selama 15

menit (Irianto, 2006). Alat-alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan dengan etanol 70 % (Volk dan Wheeler, 1993).

#### **3.5.6.2 Pembuatan Media Padat**

Media padat (*Nutrien Agar*) dibuat dengan cara melarutkan 2,3 gram Nutrien Agar (NA) dalam 100 mL aquades di dalam beaker gelas kemudian dipanaskan sampai mendidih. Dimasukkan suspensi ke dalam tabung reaksi sebanyak 7 mL untuk media peremajaan biakan bakteri dan sisanya dituang ke dalam erlenmeyer 100 mL. Seluruh media ditutup rapat menggunakan kapas dan dirapatkan kembali menggunakan plastik warp. Selanjutnya, media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi (*per square inchi*) (Volk dan Wheeler, 1993). Kemudian, media untuk peremajaan diletakkan dalam keadaan miring dan didiamkan pada suhu kamar sampai media memadat.

#### **3.5.6.3 Pembuatan Media Cair**

Media cair (*Nutrien Broth*) dibuat dengan cara melarutkan 0,9 gram Nutrien Broth (NB) dalam 100 mL aquades dalam beaker gelas dan dipanaskan sampai mendidih. Selanjutnya, suspensi dituang ke dalam erlenmeyer 100 mL ditutup dengan kapas dan dirapatkan kembali menggunakan plastik warp. Kemudian, media disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi (*per square inchi*) (Volk dan Wheeler, 1993).

#### **3.5.6.4 Peremajaan Biakan Murni Bakteri**

Biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* digoreskan menggunakan jarum ose pada media padat (*Nutrien Agar*) miring secara aseptis, yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggoreskan jarum ose.

Kemudian, tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator. Kemudian diletakkan dalam lemari pendingin.

#### **3.5.6.5 Pembuatan Larutan Biakan Bakteri**

Satu ose bakteri hasil peremajaan biakan murni dibiakkan dalam 10 ml media cair (*Nutrien Broth*) steril dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif. Kemudian dilakukan OD dengan panjang gelombang 600 nm.

#### **3.5.6.6 Uji Aktivitas Antibakteri**

Larutan biakan aktif bakteri diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian, media agar padat di dalam erlenmeyer 100 mL dipanaskan sampai mencair, lalu didinginkan sampai suhu 40 °C. Setelah itu dituangkan ke dalam cawan petri berisi larutan biakan aktif bakteri. Selanjutnya, dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram (diameter 5 mm) diresapkan pada ekstrak alga coklat dan larutan kontrol. Proses peresapan dilakukan dengan cara kertas cakram dimasukkan ke dalam larutan kontrol positif (penisilin dan streptomisin), larutan kontrol negatif (pelarut) dan larutan ekstrak alga coklat (konsentrasi 0,1 %; 1 %; 2,5 %; 5 %; 7,5 %, dan 10 %). Kertas cakram tersebut diletakkan di permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kemudian, diukur zona hambatnya dengan menggunakan penggaris. Luas zona hambat ditentukan dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona

hambat) dengan diameter cakram dan diameter zona hambat pelarut (jika pelarut memberi zona hambat).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pengulangan pada masing-masing konsentrasi sebanyak 3 kali. Pada penelitian ini digunakan kontrol positif penisilin konsentrasi 2,5 % untuk bakteri *S. aureus* dan kontrol positif streptomisin konsentrasi 0,6 % untuk bakteri *E. coli*.

#### **3.5.6.7 Penentuan Jumlah Bakteri**

Perlakuan dilakukan di dalam *Laminar air flow*. Disiapkan 10 tabung reaksi berisi 9 mL aquades steril. Larutan biakan aktif diambil 1 mL dengan pipet mikro kemudian dimasukkan ke dalam tabung pertama setelah itu dihomogenkan untuk memperoleh pengenceran konsentrasi  $10^{-1}$ . Pembuatan konsentrasi  $10^{-2}$ , dipipet 1 mL larutan dari tabung pertama kemudian dimasukkan pada tabung kedua setelah itu dihomogenkan. Konsentrasi  $10^{-3}$ , dipipet 1 mL larutan dari tabung kedua kemudian dimasukkan pada tabung ketiga dan selanjutnya dihomogenkan. Demikian seterusnya sampai diperoleh pengenceran kesepuluh.

Dari tabung kelima sampai kesepuluh diambil masing-masing 1 mL larutan lalu dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri. Kemudian ditambahkan media padat yang sudah dicairkan sebanyak 10 mL. Setelah itu cawan petri digoyang-goyang agar media padat merata lalu didiamkan beberapa menit agar memadat. Setelah itu cawan petri disimpan dalam posisi terbalik di dalam inkubator pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.

### 3.5.7 Uji Golongan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen

Uji fitokimia merupakan analisis kualitatif yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu bahan. Uji kandungan golongan senyawa melalui uji reagen dilakukan dengan melarutkan ekstrak alga coklat *Sargassum vulgare* dalam pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan tanin.

#### 3.5.7.1 Uji Alkaloid

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi ke dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, maka menunjukkan adanya alkaloid (Indrayani, dkk., 2006).

#### 3.5.7.2 Uji Flavonoid

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah serbuk logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Indrayani, dkk., 2006).

#### 3.5.7.3 Uji Saponin

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N. Jika busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka menunjukkan adanya golongan senyawa saponin.

#### **3.5.7.4 Uji Triterpenoid**

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrida. Kemudian, ditambahkan 1-2 mL larutan  $H_2SO_4$  pekat melalui dinding tabung reaksi. Jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada pembatas dua pelarut menunjukkan adanya golongan senyawa triterpenoid (Indrayani, dkk., 2006).

#### **3.5.7.5 Uji Steroid**

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrida. Kemudian ditambahkan 1-2 mL larutan  $H_2SO_4$  pekat melalui dinding tabung reaksi. Jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya golongan senyawa steroid (Indrayani, dkk., 2006).

#### **3.5.7.6 Uji Tanin**

##### **3.5.7.6.1 Uji dengan $FeCl_3$**

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan  $FeCl_3$  1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka bahan tersebut mengandung tanin.

##### **3.5.7.6.2 Uji dengan Larutan Gelatin**

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin.

#### **3.5.8 Pemisahan Golongan Senyawa dengan KLTA**

Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis analitik dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji fitokimia melalui uji reagen.

Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan plat silika gel F<sub>254</sub> dengan ukuran 1 cm x 10 cm yang sudah diaktifasi dengan pemanasan pada suhu 60-70 °C selama 10 menit. Sebanyak 1 gram fraksi hasil uji fitokimia yang positif diencerkan dengan menambahkan 1 mL pelarutnya. Kemudian ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat sebanyak ± 5-10 totalan menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya plat KLT dikeringkan dan dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Elusi dihentikan setelah fase gerak mencapai garis batas atas (1 cm dari tepi garis atas). Selanjutnya, noda diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm, kemudian diamati pada setiap hasil nodanya. Fase gerak dan reagen penguji yang digunakan untuk masing-masing senyawa adalah:

- a. Golongan Alkaloid: digunakan eluen campuran etanol-klorofom (1:9) (Ekasari, *et al.*, 2005), klorofom-metanol (9,5:0,5) (Sriwahyuni, 2010), diklorometana-metanol (1:1) (Lusiana, 2009), kloroform-*n*-heksana (2:1) (Susilaningih, 2007), metanol-NH<sub>4</sub>OH pekat (20:3) (Suryanti, 2005) dan metanol-klorofom (2:8) (Aripin, 2007). Pereaksi pendeteksi yang digunakan adalah pereaksi Dragendorff yang akan memberikan bercak coklat jingga.
- b. Golongan Flavonoid: digunakan eluen campuran metanol-klorofom (2:8) (Aripin, 2007), butanol-asam asetat-air (4:1:5) (Halimah, 2010), etil asetat-metanol (9:1) (Morina, 2007), *n*-heksana-klorofom-etil asetat (9:1:0,5) (Asih, 2009) dan klorofom-metanol (3:2) (Sukadana, 2010). Setelah diuapi dengan amoniak akan menghasilkan spot warna biru kehijauan atau memberikan noda-noda dengan warna flourosensi biru, kuning-hijau, ungu dan biru-ungu

yang terpisah dengan baik setelah disinari menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm.

- c. Golongan Saponin: digunakan eluen campuran klorofom-metanol-air (13:7:2) (Harborne, 1987), klorofom-metanol-air (3:1:0,1) dan klorofom-metanol-air (14:6:1) (Bogoriani, *et al.*, 2007) dan klorofom-aseton (4:1) (Suryanti, 2005) dan klorofom-metanol-air (20:60:10) (Halimah, 2010). Ketika ditambah  $H_2SO_4$  0,1 M akan menampilkan warna ungu-ungu gelap.
- d. Golongan Triterpenoid: digunakan eluen campuran klorofom-metanol (10:1) (Harborne, 1987), *n*-heksana dan etil asetat (2:8) (Halimah, 2010), campuran *n*-heksana-klorofom (1:1) (Sukadana *et al.*, 2007), klorofom-metanol (3:7) (Gunawan, dkk., 2008) dan *n*-heksana-etil asetat (7:3) (Handayani, 2008). Pereaksi pendeteksi yang digunakan adalah pereaksi Lieberman-Buchard yang akan memberikan spot berwarna ungu, ungu tua, merah keunguan, merah muda keunguan dan ungu muda.
- e. Golongan Steroid: digunakan eluen campuran *n*-heksana-etil asetat (9:1), *n*-heksana-etil asetat (7:3) (Handayani, 2008), *n*-heksana-aseton (7:3) (Syamsudin, 2007), *n*-heksana-etil asetat (6:4) dan *n*-heksana-etil asetat (8:2) (Reveny, 2008). Pereaksi pendeteksi yang digunakan adalah pereaksi Liberman-Buchard yang akan memberikan spot berwarna hijau terang, hijau kekuningan, hijau kecoklatan, hijau kehitaman dan ungu yang tengahnya berwarna hijau kebiruan.
- f. Golongan Tanin: digunakan eluen asam asetat glasial-air-HCl pekat (30:10:3) (Nuraini, 2002), butanol-asam asetat-air (14:1:5) (Harborne, 1987), butanol-

asam asetat-air (2:0,5:1,1) (Yulia, 2006), *n*-butanol-asam asetat-air (4:1:5) (Sa'adah, *et al.*, 2010) dan *n*-butanol-asam asetat-air (4:1:5) (Sidik, 2012). Bercak noda diperiksa dengan sinar UV kemudian dengan penyemprot  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna lembayung.

Penggolongan senyawa aktif dapat dilakukan dengan identifikasi kepekatan warna yang dihasilkan pada masing-masing ekstrak dengan tanda berikut:

+ : terkandung senyawa

- : tidak terkandung senyawa/tidak terbentuk warna

### 3.6 Analisis Data

Data aktivitas antibakteri dianalisis ragam melalui uji ANOVA dua arah untuk menguji adanya pengaruh antar perlakuan variasi konsentrasi ekstrak *S. vulgare* dan variasi pelarut terhadap zona hambat yang dihasilkan. Apabila terdapat adanya pengaruh, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dengan tingkat signifikansi 5 % untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau berbeda nyata di antara perlakuan yang lain.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, penghalusan dan pengayakan. Sampel dicuci sampai bersih menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Pengeringan sampel bertujuan untuk menurunkan kadar air dan mempermudah proses penyimpanan seperti mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 35-38 °C untuk menghindari kerusakan atau hilangnya senyawa aktif yang diinginkan. Proses penghalusan sampel dilakukan agar luas permukaan sampel semakin besar sehingga kontak sampel dengan pelarut semakin maksimal. Selain itu, penghalusan juga memungkinkan pecahnya sel-sel, sehingga mempermudah pengambilan senyawa aktif oleh pelarut. Setelah dilakukan penghalusan sampel diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 60-100 mesh.



Gambar 4.1 Sampel *S. vulgare* basah (a) dan kering (b)

## 4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam sampel. Kadar air sangat berpengaruh terhadap daya simpannya, karena berkaitan dengan aktivitas mikrobiologi yang terjadi selama sampel tersebut disimpan. Prinsip analisis kadar air adalah adanya pemanasan dan penimbangan (*Thermogravimetri*) menggunakan oven pemanas pada temperatur 105 °C sampai diperoleh berat sampel yang konstan. Pemanasan tersebut dilakukan pada temperatur yang tinggi yaitu berada di atas titik didih air (100 °C) untuk penguapan air yang lebih maksimal. Data dan perhitungan analisis kadar air ditunjukkan pada Lampiran 4.

Tabel 4.1 Kadar air alga coklat *S. vulgare*

Ekstrak	Kadar Air (% b/b)
Sampel basah	77,625
Sampel kering	9,352

Berdasarkan Tabel 4.1, kadar air pada sampel basah *S. vulgare* sebesar 77,625 %, kadar air tersebut cukup tinggi karena sampel *S. vulgare* diambil dari habitat perairan dan dimungkinkan terdapat kadar air yang banyak. Kandungan air sampel kering cenderung lebih rendah, hal ini disebabkan oleh penguapan air melalui pemanasan pada saat pengeringan. Menurut Atmadja dkk. (1996) kandungan air rumput laut segar umumnya sama seperti pada tanaman yaitu berkisar antara 80-90 % dan setelah pengeringan menjadi 10-20 %.

Pada penelitian ini kadar air sampel setelah dikeringkan sebesar 9,352 %. Alfiyaturrohmah (2013) menginformasikan kadar air sampel kering dengan jenis

alga yang sama yaitu sebesar 11,80 %. Perbedaan kadar air dalam sampel dapat disebabkan oleh perbedaan tempat dan waktu pengambilan sampel.

Hasil analisis kadar air sampel kering alga coklat *S. vulgare* menghasilkan nilai yang cukup baik karena kurang dari 10 %. Menurut Cahyono dkk. (2011) jika kadar air bahan lebih besar dari 10 % maka akan tumbuh mikroorganisme dan mempengaruhi reaksi enzimatik sehingga mempercepat pembusukan sampel. Selain itu, penentuan kadar air juga berpengaruh terhadap proses ekstraksi zat aktif. Kadar air yang rendah dapat mempermudah proses penarikan zat aktif dalam sampel. Hal ini dikarenakan pelarut mudah menembus dinding sel sampel tanpa adanya gangguan dari molekul air.

#### 4.3 Analisis Kadar Garam

Penentuan kadar garam pada penelitian ini menggunakan *Salinometer Atago PAL-06S Refractometer*. Prinsip alat ini adalah dengan memanfaatkan indeks bias cahaya untuk mengetahui tingkat salinitas dari sampel yang berupa cairan. Penentuan kadar garam dilakukan untuk mengetahui kadar salinitas dari suatu sampel, karena beberapa mikroorganisme sensitif terhadap kadar salinitas yang tinggi. Pada penelitian uji aktivitas antibakteri ini, di khawatirkan bakteri uji tidak terhambat oleh zat aktif dalam sampel melainkan karena kadar salinitasnya tinggi. Berdasarkan perhitungan pada Lampiran 5, diperoleh kadar garam sebesar 15,6 %.

Menurut Hudaya dan Derajat (1980) kadar garam pada konsentrasi 10-15 % dapat membunuh sebagian besar jenis bakteri, kecuali bakteri jenis “halofilik”

yaitu jenis bakteri yang tahan terhadap konsentrasi garam 26,6 %. Bakteri *E. coli* dapat dihambat pertumbuhannya pada konsentrasi garam 13 % (Rosida dkk., 2007). Sedangkan bakteri *S. aureus* dapat dihambat pertumbuhannya pada konsentrasi garam 15-20 % (Rahayu, dkk., 1992).

#### 4.4 Ekstraksi Alga Coklat *S. vulgare*

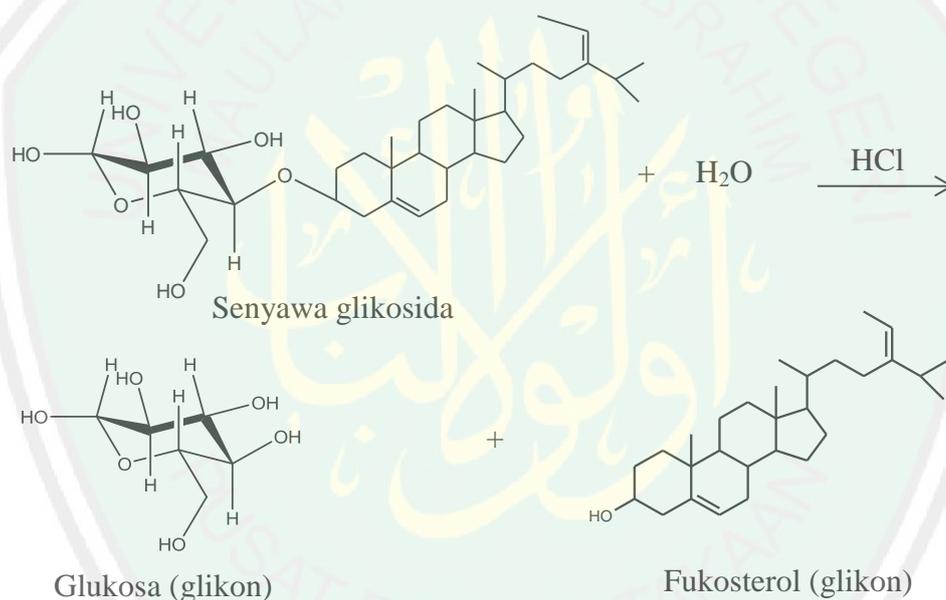
##### 4.4.1 Maserasi

Ekstraksi maserasi dilakukan untuk mengambil atau mengekstrak zat aktif yang terkandung dalam sampel. Maserasi sering digunakan karena melalui perendaman pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif. Dengan demikian maka zat aktifnya akan larut dalam pelarut.

Setelah maserasi kemudian sampel disaring menggunakan *corong buchner* untuk memisahkan endapan dengan filtrat yang mengandung ekstrak. Ekstrak metanol hasil maserasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum*, alat ini menggunakan prinsip vakum destilasi sehingga tekanan akan menurun dan pelarut akan menguap di bawah titik didihnya. Selanjutnya ekstrak pekat dialiri gas N<sub>2</sub> untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut yang mungkin masih menempel ketika proses pengupuan pelarut menggunakan *rotary evaporator vacuum*. Berdasarkan perhitungan, dari 200 gram serbuk alga coklat *S. vulgare* diperoleh ekstrak pekat metanol sebanyak 29,654 gram dengan rendemen ekstrak metanol sebesar 14,8 %.

#### 4.4.2 Hidrolisis

Tujuan dilakukan hidrolisis adalah untuk memisahkan glikon (m mengandung gugus gula) dengan aglikon (senyawa metabolit sekunder) pada suatu senyawa glikosida. Dengan adanya pemutusan ikatan glikosida ini, maka senyawa metabolit sekunder yang diperoleh menjadi lebih maksimal. Hidrolisis dilakukan dengan penambahan katalis asam yaitu HCl. Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida pada proses hidrolisis ditunjukkan pada Gambar 4.2 :



Gambar 4.2 Reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida

Penggunaan asam kuat seperti HCl pada sistem hidrolisis akan berpengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton dari asam tersebut sehingga akan membantu dalam pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006). Semakin banyak proton yang terionisasi dalam air, maka semakin kuat peranan proton tersebut dalam pemutusan ikatan glikosida. Asam kuat akan lebih mudah melepas proton ( $\text{H}^+$ ) secara sempurna di dalam air.

Larutan ekstrak yang telah dihidrolisis kemudian dinetralkan dengan menambahkan  $\text{NaHCO}_3$  tetes pertetes. Proses penetralkan ini dilakukan untuk menetralkan larutan ekstrak yang bersifat asam karena penambahan  $\text{HCl}$ , larutan ekstrak dinetralkan sampai mencapai pH netral (pH 7). Reaksi penetralkan yang terjadi sebagaimana di bawah ini:



Gambar 4.3 Reaksi penetralkan dengan natrium bikarbonat

#### 4.4.3 Partisi (Ekstraksi cair-cair)

Larutan ekstrak hasil dihidrolisis yang telah mencapai pH netral selanjutnya dipartisi (ekstraksi cair-cair) dengan variasi pelarut etil asetat, kloroform dan petroleum eter. Tujuan dari partisi ini adalah untuk melarutkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan sifat kepolaran masing-masing. Prinsip ekstraksi cair-cair (partisi) yaitu proses pemisahan berdasarkan distribusi suatu zat diantara dua larutan yang tidak saling bercampur.

Dari partisi ini akan diperoleh 2 lapisan yang tidak saling bercampur yaitu lapisan air dan lapisan organik yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Masing-masing lapisan organik yang diduga mengandung golongan senyawa metabolit sekunder kemudian diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak hasil partisi yang meliputi fraksi etil asetat, fraksi kloroform dan fraksi petroleum eter. Sedangkan lapisan airnya diuji kadar gula reduksi untuk mengetahui kadar gula yang diperoleh dari adanya pemutusan ikatan glikosida.

Tabel 4.2 Hasil ekstraksi dan rendemen masing-masing fraksi

<b>Pelarut</b>	<b>Warna filtrat</b>	<b>Warna ekstrak pekat</b>	<b>Rendemen (%)</b>
Etil asetat	Hijau kecoklatan	Coklat kehitaman	26,3
Kloroform	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	27
Petroleum eter	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	25,3

Berdasarkan Tabel 4.2, dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak fraksi kloroform lebih besar dari pada rendemen fraksi lainnya. Hasil rendemen ini diduga bahwa kandungan golongan senyawa yang bersifat semipolar dalam alga coklat *S. vulgare* lebih banyak dari pada senyawa polar dan nonpolar.

#### 4.4.4 Uji Gula Reduksi

Setelah dilakukan hidrolisis, maka gugus gula (glikon) akan terputus dari ikatan glikosida. Dengan demikian maka kadar gula yang diperoleh dari hidrolisis dapat ditentukan dan diketahui jumlahnya. Masing-masing lapisan (fase) air hasil partisi diuji kadar gula reduksinya menggunakan metode DNS. Selain itu, ekstrak kasar metanol juga diuji untuk mengetahui perbedaan kadar gula reduksi sebelum dan setelah hidrolisis. Kadar gula reduksi dari ekstrak kasar metanol sebelum dihidrolisis dan masing-masing lapisan air ditunjukkan dalam Tabel 4.3:

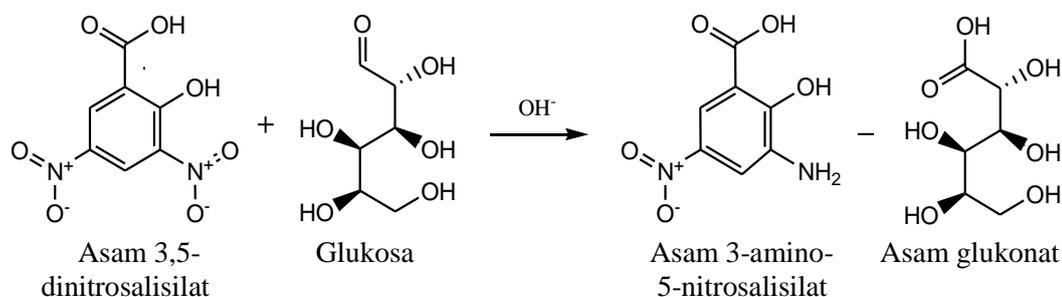
Tabel 4.3 Kadar gula reduksi ekstrak metanol dan masing-masing fraksi

<b>Sampel</b>	<b>Gula reduksi (ppm)</b>
Ekstrak kasar metanol	26,1
Fase air etil asetat	11,3
Fase air kloroform	16,4
Fase air petroleum eter	13,8

Berdasarkan Tabel 4.3, dapat diketahui bahwa ekstrak kasar metanol sebelum dihidrolisis mempunyai kadar gula reduksi lebih tinggi dibandingkan dengan masing-masing lapisan air hasil hidrolisis. Kadar gula reduksi dalam

setiap lapisan air harusnya lebih besar dibandingkan ekstrak kasar metanol karena senyawa glikosida dalam hidrolisat telah mengalami pemutusan ikatan glikosida. Senyawaan gula akan larut dalam pelarut polar sehingga akan terikat ke dalam masing-masing lapisan air. Akan tetapi dalam penelitian ini diperoleh data sebaliknya. Hal tersebut dimungkinkan karena gugus gula yang berada dalam lapisan (fase) air hasil hidrolisis merupakan gula nonreduksi sehingga tidak dapat dideteksi menggunakan metode DNS. Selain itu, diduga dalam ekstrak kasar metanol terdapat senyawa selain gula yang mempunyai gugus aldehid atau keton bebas sehingga mampu terdeteksi kadar gula reduksinya dengan reagen DNS. Hidrolisis yang kurang sempurna juga mempengaruhi pemutusan ikatan glikosida yang mengakibatkan glikon masih terikat pada aglikonnya. Dengan demikian, maka jumlah gula reduksinya telah tidak dapat terdeteksi.

Glukosa dalam ekstrak akan bereaksi dengan reagen DNS dan ditunjukkan dengan perubahan warna. Hasil dari reaksi tersebut adalah asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang ditunjukkan dengan warna orange pada larutan sampel. Intensitas warna yang terbentuk menunjukkan konsentrasi atau banyaknya gula yang mereduksi. Reaksi antara reagen DNS dengan glukosa dapat dilihat pada Gambar 4.4 :



Gambar 4.4 Reaksi antara reagen DNS dengan glukosa

Komponen reagen DNS adalah asam dinitrosalisilat, garam KNa-Tartrat, fenol, natrium sulfit, dan natrium hidroksida. Komponen-komponen tersebut memiliki fungsi, yaitu asam 3,5-dinitrosalisilat untuk mereduksi glukosa dalam keadaan basa yang dibantu oleh natrium hidroksida, garam KNa-Tartrat untuk menghilangkan pengaruh senyawa yang mengganggu sehingga kompleks warna tetap stabil, fenol berfungsi untuk mengoptimalkan intensitas warna yang terbentuk dan natrium sulfit untuk menstabilisasi warna kompleks (Miller, 1959 dalam Zulaikhah, 2013).

#### 4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Prinsip dari metode ini adalah terdifusinya zat antibakteri yang berada pada kertas cakram menuju permukaan media agar yang telah diinokulasi atau ditanami bakteri uji. Bakteri akan terhambat pertumbuhannya dengan pengamatan terbentuknya zona bening disekeliling kertas cakram. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin efektif zat tersebut sebagai antibakteri. Pengujian ini dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* (gram positif) dan bakteri *E. coli* (gram negatif).

Diameter zona bening yang muncul di sekitar cakram berisi ekstrak dibandingkan dengan diameter zona bening yang muncul disekitar cakram yang berisi kontrol positif (streptomisin dan penisilin) dan kontrol negatif (pelarut). Apabila zona hambat ekstrak lebih besar dari zona bening kontrol positif, maka ekstrak efektif sebagai antibakteri. Sedangkan jika sebaliknya, maka ekstrak

kurang efektif sebagai antibakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar metanol, fraksi etil asetat, kloroform dan petroleum eter ditunjukkan pada Tabel 4.4 dan Tabel 4.5:

Tabel 4.4 Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri *S. aureus*

Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm)			
	Ekstrak Kasar Metanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Kloroform	Fraksi Petroleum Eter
0,5	-	-	-	-
1	-	1	-	-
2,5	-	3,67	-	-
5	0,5	4	-	-
7,5	1,67	4,5	-	-
10	-	8,5	-	1,5
<b>Kontrol positif (penisilin 2,5)</b>			25	
<b>Kontrol negatif (pelarut)</b>	-	-	-	-
<b>Total bakteri CFU/mL</b>		2,88x10 <sup>8</sup>		

Berdasarkan Tabel 4.4, diketahui bahwa fraksi etil asetat memberikan aktivitas antibakteri yang paling baik dibanding dengan fraksi yang lainnya. Hal tersebut dimungkinkan karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri cenderung terdistribusi ke dalam pelarut semipolar. Kemampuan fraksi etil asetat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* semakin bertambah besar dengan semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak. Berbeda dengan ekstrak kasar metanol dan petroleum eter yang menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi tinggi saja. Umumnya semakin tinggi konsentrasi senyawa obat antibakteri maka akan menghasilkan aktivitas yang semakin besar pula. Dengan

demikian, jika konsentrasi ekstrak ditinggikan kemungkinan akan memberikan aktivitas antibakteri yang lebih baik.

Tabel 4.5 Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*

Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm)			
	Ekstrak Metanol Kasar	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Kloroform	Fraksi Petroleum Eter
0,5	-	-	-	-
1	-	-	-	-
2,5	-	0,83	-	-
5	-	2,17	-	-
7,5	-	5,17	-	-
10	-	6	-	-
<b>Kontrol positif (Streptomisin 0,6)</b>			13,5	
<b>Kontrol negatif (pelarut)</b>	-	-	-	-
<b>Total bakteri CFU/mL</b>		2,96x10 <sup>8</sup>		

Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa fraksi yang memberikan aktivitas antibakteri hanya fraksi etil asetat, sedangkan fraksi yang lainnya tidak memberikan aktivitas antibakteri. Hal tersebut dimungkinkan karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri cenderung terdistribusi ke dalam pelarut semipolar. Kemampuan fraksi etil asetat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* semakin besar dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak. Hal ini disebabkan oleh kuantitas komponen aktif yang bersifat antibakteri akan semakin banyak dalam konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri pada Tabel 4.5 dan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa aktivitas antibakteri yang baik diberikan oleh fraksi etil

asetat. Dalam fraksi etil asetat dimungkinkan senyawa yang terkandung adalah golongan senyawa yang bersifat semipolar. Aktivitas antibakteri pada ekstrak semipolar juga ditunjukkan pada penelitian Eom *et al.* (2011) yang mengekstrak alga coklat *Eisenia bisiklis* dengan pelarut metanol kemudian dipartisi menggunakan variasi pelarut *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan *n*-butanol. Berdasarkan penelitian tersebut, fraksi etil asetat mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan aktivitas yang paling besar. Didukung oleh penelitian Reveny (2011) yang menginformasikan bahwa fraksi etil asetat memberikan aktivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan penelitian Alfiyaturrohmah (2013) diketahui bahwa aktivitas antibakteri terbaik alga coklat *S. vulgare* diberikan oleh ekstrak kasar kloroform. Pada konsentrasi ekstrak 1 % zona hambat yang dihasilkan sebesar 1,8 mm terhadap bakteri *S. aureus* sedangkan terhadap bakteri *E. coli* dihasilkan zona hambat sebesar 1,6 mm pada konsentrasi 10 %. Perbedaan hasil penelitian ini dapat disebabkan oleh perbedaan metode yang dilakukan. Adanya hidrolisis pada penelitian ini menyebabkan fraksi kloroform tidak memberikan aktivitas antibakteri. Hal ini diduga karena zat aktif yang berperan sebagai antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri jika masih terikat pada glikonnya (gugus gula). Sehingga jika zat aktif tersebut terdapat bebas dalam bentuk senyawa metabolit sekunder maka cenderung tidak mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas antibakteri yang cenderung lebih kecil dibandingkan dengan senyawa dalam obat komersil seperti penisilin dan

streptomisin. Pada penelitian ini digunakan kontrol positif yaitu penisilin untuk bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 25 mm dan streptomisin untuk bakteri *E. coli* dengan zona hambat 13,5 mm. Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Yuningsih (2007) daerah hambatan ekstrak kurang dari 5 mm tergolong lemah, antara 5 mm sampai 8 mm tergolong lemah, antara 10 sampai 20 mm tergolong kuat dan lebih dari 20 mm tergolong sangat kuat. Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri menghasilkan zona hambat terbaik yaitu 8,5 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan 6 mm terhadap *E. coli*. Jika dimasukkan ke dalam rentang ketentuan kekuatan antibakteri, maka aktivitas antibakteri yang diberikan oleh fraksi etil asetat alga coklat *S. vulgare* tergolong sedang.

Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut yang meliputi metanol dan pelarut yang digunakan untuk partisi yaitu etil asetat, kloroform dan petroleum eter. Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak memberikan daya hambat terhadap kedua bakteri uji. Sehingga dapat disimpulkan bahwa zona hambat ekstrak yang terbentuk adalah murni dari aktivitas ekstrak dan tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Selain itu, berdasarkan analisis kadar garam terhadap sampel diketahui bahwa kadar salinitas sampel juga tidak memberikan pengaruh terhadap penghambatan bakteri uji. Terhambatnya pertumbuhan bakteri uji cenderung disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *S. vulgare*. Menurut Windholz (1983), garam sangat sedikit sekali larut dalam pelarut alkohol sebagaimana dalam penelitian ini sampel diekstrak menggunakan metanol.

Bakteri *S. aureus* cenderung dapat dihambat oleh konsentrasi ekstrak yang lebih rendah dibandingkan dengan bakteri *E. coli*. Hal tersebut diduga karena adanya perbedaan komponen penyusun dinding sel bakteri gram positif (*S. aureus*) dan gram negatif (*E. coli*). Dinding sel bakteri gram positif mengandung lipid yang lebih rendah daripada bakteri gram negatif (Pleczar dan Chan, 1986). Diduga komponen senyawa aktif yang bersifat semipolar cenderung lebih mudah masuk ke dalam dinding sel bakteri gram positif dalam menghambat pertumbuhannya.

#### 4.6 Uji Fitokimia

Fraksi *S. vulgare* yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi selanjutnya digunakan untuk uji fitokimia. Uji fitokimia pada penelitian ini merupakan dugaan awal untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam *S. vulgare* yang memberikan aktivitas antibakteri. Prinsip metode fitokimia ini adalah adanya perubahan warna oleh suatu pereaksi (reagen) warna, dimana perubahan warna yang dihasilkan kemudian dicocokkan dengan standar warna. Uji fitokimia dilakukan dengan cara mereaksikan ekstrak dengan suatu reagen tertentu di dalam gelas uji. Adanya perubahan warna yang sesuai dengan warna standar menunjukkan hasil yang positif terhadap golongan senyawa tersebut. Berdasarkan penelitian dan pengamatan diperoleh hasil uji fitokimia fraksi etil asetat *S. vulgare* sebagaimana pada Tabel 4.6 :

Tabel 4.6 Hasil uji fitokimia fraksi etil asetat alga coklat *S. vulgare*

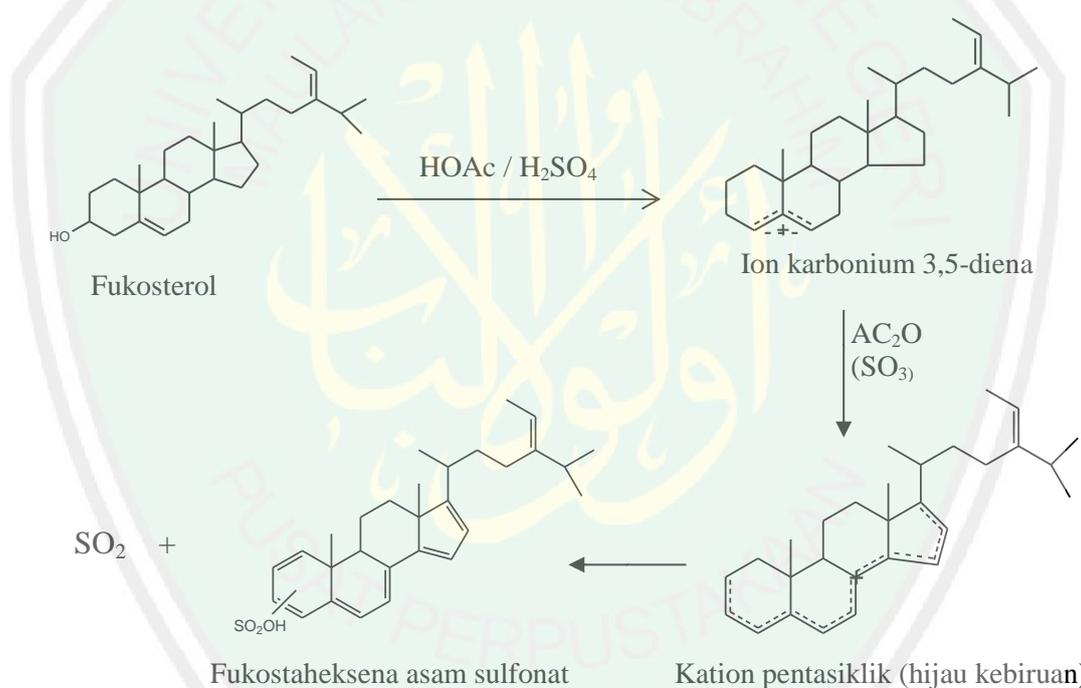
Uji	Ekstrak <i>S. vulgare</i>	Warna	Standar warna
Flavonoid	–	Hijau	Merah/ jingga
Tanin			
▪ FeCl <sub>3</sub>	–	Hijau kekuningan	Hijau kehitaman/ biru tua
▪ Gelatin	–	Hijau kecoklatan	Endapan putih
Alkaloid			
▪ Dragendrof	–	Merah kekuningan	Endapan jingga, merah bata
▪ Mayer	–	Hijau	Endapan kekuning- kuningan
Saponin	–	Hijau	Terbentuk busa
Steroid	+	Hijau kebiruan	Hijau kebiruan
Triterpenoid	–	Hijau kebiruan	Terbentuk cincin kecoklatan
Keterangan : Tanda + = Terkandung senyawa Tanda – = Tidak terkandung senyawa			

Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.6 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat *S. vulgare* diduga mengandung golongan senyawa steroid. Senyawaan steroid kebanyakan mengandung gugus -OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga dengan adanya substituen gugus hidroksil yang terikat pada rantai hidrokarbon maka sifatnya cenderung semi polar. Sifat semipolar ini menyebabkan steroid dapat terekstrak dalam pelarut semipolar yaitu etil asetat (Afif, 2013).

#### 4.6.1 Steroid

Uji golongan senyawa steroid fraksi etil asetat *S. vulgare* ditandai dengan adanya perubahan warna larutan ekstrak dari hijau kekuningan menjadi hijau kebiruan. Penambahan kloroform untuk melarutkan senyawa steroid yang terkandung dalam ekstrak, sedangkan asam asetat anhidrat untuk membentuk turunan asetil (Alfiyaturohmah, 2013). Jika dalam larutan uji terdapat molekul air

maka asam asetat anhidrat akan berubah menjadi asam asetat dan turunan asetil tidak terbentuk. Senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam dengan memberikan reaksi warna biru sampai hijau (Mukhlisoh, 2010). Perubahan warna ini disebabkan oleh reaksi oksidasi golongan steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Sriwahyuni, 2010). Dugaan reaksi steroid dengan pereaksi Lieberman-Burchard ditunjukkan pada Gambar 4.5:



Gambar 4.5 Dugaan reaksi steroid dengan reagen Lieberman-Buchard (mengacu pada Burke *et al.*, 1974)

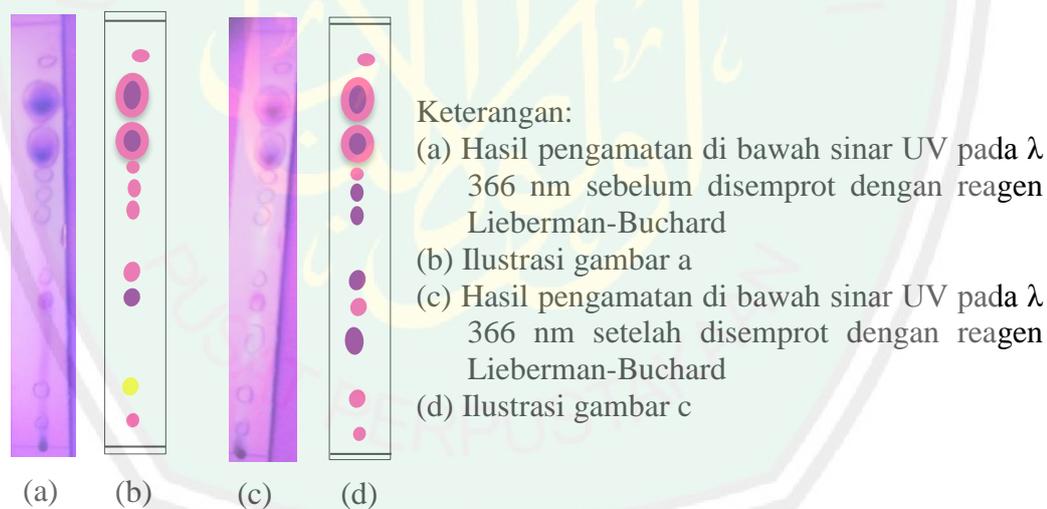
Pada penelitian ini diduga aktivitas antibakteri disebabkan oleh adanya kandungan golongan senyawa yaitu steroid. Hal ini sesuai dengan pendapat Farouk *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa antimikroba adalah golongan atau turunan dari senyawa terpenoid, diantaranya yaitu steroid. Golongan steroid menghambat pertumbuhan

bakteri dengan cara mengganggu proses pembentukan membran dan dinding sel bakteri. Pada keadaan tersebut fosfolipid yang merupakan lapisan tipis yang menyelimuti peptidoglikan tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma. Akibatnya, membran sitoplasma akan mengalami lisis dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian (Robinson, 1995). Didukung oleh penelitian Morin dan Gorman (1995) yang menyebutkan bahwa senyawa steroid mempunyai struktur lipofilik, yaitu senyawa yang larut dalam lemak. Steroid berinteraksi dengan fosfolipid pada membran sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik, sehingga menyebabkan integritas membran menurun dan morfologi membran berubah. Keadaan ini mengakibatkan rapuhnya membran sel bakteri dan sel mengalami lisis sehingga komponen penyusun sel yang berada di dalamnya (seperti: inti sel, mesosom dan protein) keluar dan bakteri mengalami kematian.

#### **4.7 Pemisahan Golongan Senyawa dengan KLTA**

Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dipisahkan golongan senyawanya dengan menggunakan KLTA. Prinsip pemisahan pada metode ini adalah berdasarkan distribusi zat aktif terhadap fase gerak dan fase diam. Fase diam berupa silika gel F<sub>254</sub> dan fase gerak berupa larutan pengembang (eluen). Ekstrak yang mengandung golongan senyawa tertentu akan terpisah satu sama lain berdasarkan daya adsorsinya terhadap media pemisah. Golongan senyawa yang dipisahkan pada penelitian ini adalah golongan yang memberikan reaksi positif pada uji fitokimia yaitu steroid.

Adapun eluen yang digunakan yaitu campuran *n*-heksana : etil asetat (9:1), *n*-heksana : etil asetat (7:3) (Handayani, 2008), *n*-heksana : aseton (7:3) (Syamsudin, 2007), *n*-heksana : etil asetat (6:4) dan *n*-heksana : etil asetat (8:2) (Reveny, 2008). Diantara 5 variasi eluen tersebut diperoleh 1 eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik, yaitu *n*-heksana : etil asetat (8:2). Jika menggunakan fase diam silika gel F<sub>254</sub> yang bersifat polar maka eluen yang baik untuk digunakan sebagai pengembang adalah mencampurkan pelarut yang bersifat sedikit polar (etil asetat) ke dalam pelarut nonpolar (*n*-heksana) (Gandjar dan Rohman, 2007). Hasil dari KLT pemisahan golongan senyawa steroid fraksi etil asetat ditunjukkan pada Gambar 4.6 dan Tabel 4.7.



Gambar 4.6 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid dengan KLTA

Berdasarkan pemisahan pada Gambar 4.6, sebelum plat KLT disemprot dengan reagen Lieberman-Buchard menghasilkan 10 spot. Namun, setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Buchard spot yang dihasilkan menjadi 11 spot. Hal ini dikarenakan ada reaksi antara spot atau bercak dengan reagen Lieberman-Buchard. Menurut Gandjar dan Rohman (2007), plat KLT yang

disemprot dengan reagen kromogenik akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna.

Tabel 4.7 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid

No	Rf (cm)	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Lieberman-Buchard	Setelah disemprot reagen Lieberman-Buchard	
1	0,05	Merah muda	Merah muda	-
2	0,11	Kuning	Merah muda	-
3	0,25	-	Ungu	Steroid
4	0,32	Ungu	Merah muda	-
5	0,38	Merah muda	Ungu	Steroid
6	0,53	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,58	Merah muda	Ungu	Steroid
8	0,62	Merah muda	Merah muda	-
9	0,68	Merah muda tengah ungu	Merah muda tengah ungu	Steroid
10	0,81	Merah muda tengah ungu	Merah muda tengah ungu	Steroid
11	0,91	Merah muda	Merah muda	-

Identifikasi spot yang merupakan golongan senyawa steroid diperoleh sebanyak 6 spot. Spot ke 3, 5, 6, 7, 9 dan 10 dinyatakan positif golongan senyawa steroid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna ungu setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Buchard dan dideteksi di bawah sinar UV<sub>366</sub>. Identifikasi golongan senyawa steroid setelah disemprot dengan reagen Lieberman-Buchard dan dideteksi di bawah sinar UV<sub>366</sub> akan menghasilkan warna spot di antaranya hijau (Handayani, 2008); biru, ungu dan coklat (Syamsudin, dkk., 2007); ungu (Reveny, 2011).

Pengamatan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm akan menghasilkan noda bercak yang berpendar dengan latar belakang yang gelap, sehingga spot yang berpendar (berfluoresensi) dapat terlihat secara visual. Penampakan spot tersebut dikarenakan adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom yang ada pada spot. Kromofor merupakan semua gugus atau atom dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar UV-Vis, sedangkan aoksokrom adalah gugus fungsional yang memiliki elektron bebas. Fluoresensi cahaya nampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula dengan melepaskan energi. Pada keadaan ini spot terlihat terang di bawah sinar UV  $\lambda$  366 nm, sedangkan silika gel tidak berfluoresensi pada lampu UV  $\lambda$  366 nm (Sulandi, 2013).

#### 4.8 Analisis Data

Data pengaruh variasi konsentrasi dan pelarut ekstrak alga coklat *S. vulgare* terhadap zona hambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menggunakan analisis ANOVA dua arah. Analisis tersebut terdiri dari dua atau lebih variabel bebas (pelarut dan konsentrasi) dan satu variabel terikat (zona hambat bakteri). Fungsi analisis ini untuk menguji perbedaan mean (rerata) perlakuan terhadap variabel terikat.

Hasil analisis ANOVA dua arah pengaruh variasi konsentrasi dan pelarut ekstrak alga coklat *S. vulgare* terhadap zona hambat bakteri *S. aureus*

menghasilkan nilai  $F_{hitung}$  sebesar 1,52 dan 8,13. Berdasarkan tabel statistika diperoleh nilai  $F_{tabel}$  dari variasi konsentrasi dan pelarut adalah 2,90 dan 3,29. Angka signifikan ( $\alpha$ ) yang diberikan adalah 5 % (0,05) sedangkan hasil uji ANOVA diperoleh nilai  $P-Value$  0,241 untuk perlakuan variasi konsentrasi dan 0,002 untuk perlakuan variasi pelarut. Adapun analisis ANOVA terhadap bakteri *E. coli* menghasilkan nilai  $F_{hitung}$  sebesar 1,00 untuk variasi konsentrasi dan 4,83 untuk variasi pelarut. Berdasarkan tabel statistika diperoleh nilai  $F_{tabel}$  dari variasi konsentrasi dan pelarut adalah 2,90 dan 3,29. Angka signifikan ( $\alpha$ ) yang diberikan adalah 5 % (0,05) sedangkan hasil uji ANOVA diperoleh nilai  $P-Value$  0,451 untuk perlakuan variasi konsentrasi dan 0,015 untuk perlakuan variasi pelarut.

Berdasarkan nilai-nilai di atas maka pengambilan keputusan menggunakan statistik uji untuk perlakuan variasi konsentrasi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diperoleh  $F_{hitung} < F_{tabel}$  dan angka signifikan  $> P-Value$ . Dengan demikian maka  $H_0$  diterima yang berarti perlakuan variasi konsentrasi ekstrak tidak berpengaruh nyata.  $H_0$  merupakan hipotesis awal untuk dugaan bahwa rata-rata zona hambat setiap perlakuan variasi konsentrasi sama sedangkan pada  $H_1$  setiap perlakuan variasi konsentrasi ada perbedaan.

Pengambilan keputusan menggunakan statistik uji untuk perlakuan variasi pelarut terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diperoleh  $F_{hitung} > F_{tabel}$  dan angka signifikan  $< P-Value$ . Dengan demikian maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, yang berarti perlakuan variasi pelarut berpengaruh nyata.  $H_0$  merupakan hipotesis awal untuk dugaan bahwa rata-rata zona hambat setiap perlakuan variasi pelarut sama

sedangkan pada  $H_1$  setiap perlakuan variasi pelarut ada perbedaan. Data dan hasil ANOVA ditunjukkan pada Lampiran 9.

Adanya perbedaan rata-rata yang diinformasikan melalui uji ANOVA di atas belum diketahui secara pasti dimanakah letak perbedaan rata-rata tersebut berada. Maka dari itu, untuk mengetahuinya dapat dilakukan pengujian lebih lanjut berupa uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Uji BNT merupakan prosedur pengujian perbedaan diantara rata-rata perlakuan. Hasil uji BNT variasi konsentrasi terhadap zona hambat *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.8 :

Tabel 4.8 Hasil uji BNT variasi pelarut terhadap zona hambat

Variasi Pelarut	Notasi	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Etil asetat	a	A
Metanol	b	B
Petroleum eter	b	B
Kloroform	b	B

Notasi huruf yang sama merupakan tidak ada beda nyata antara rata-rata zona hambat bakteri terhadap perlakuan variasi pelarut sedangkan notasi huruf yang berbeda sebaliknya. Penentuan pelarut terbaik dapat diketahui dengan melihat pelarut manakah yang memberikan nilai rata-rata tertinggi. Berdasarkan Tabel 4.8 dan Tabel 4.9 hasil uji BNT rata-rata zona hambat *S. aureus* terhadap perlakuan variasi pelarut metanol, kloroform dan petroleum eter tidak berbeda secara signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli*. Sedangkan pelarut etil asetat merupakan pelarut yang lebih baik jika direkomendasikan sebagai pelarut untuk mengekstraksi golongan senyawa yang berpotensi sebagai obat antibakteri.

#### 4.9 Pemanfaatan Alga Coklat *S. vulgare* Dalam Perspektif Islam

Indonesia merupakan negara yang mempunyai kekayaan bahari sangat melimpah. Hal tersebut ditunjukkan dengan keragaman hasil laut seperti bermacam-macam ikan segar, terumbu karang dan rumput laut atau alga. Salah satu dari kelimpahan hasil laut tersebut yang sudah banyak dimanfaatkan oleh industri makanan, minuman dan obat-obatan adalah alga. Produk olahannya berupa agar-agar yang diproduksi untuk pembuatan *ice cream*, jelly dan puding. Oleh karena itu, sebagai manusia yang telah dilimpahi banyak nikmat oleh Allah SWT maka harus dapat memanfaatkan ciptaanNya dengan sebaik-baiknya.

Penelitian ini merupakan salah satu upaya untuk mengambil manfaat dari kekayaan laut yang berupa alga. Alga merupakan tumbuhan yang berasal dari laut dan segala yang berasal dari laut halal hukumnya untuk dimakan. Sebagaimana dalam surat al Maidah ayat 96, Allah SWT berfirman:

أَحِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَاعًا لَكُمْ وَلِلسَّيَّارَةِ صَلَّى وَحُرِّمَ عَلَيْكُمْ صَيْدُ الْبَرِّ مَا دُمْتُمْ حُرْمًا قُلَىٰ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي إِلَيْهِ تُحْشَرُونَ ﴿٩٦﴾.

*“Dihalalkan bagimu binatang buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagimu, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan; dan diharamkan atasmu (menangkap) binatang buruan darat, selama kamu dalam ihram. Dan bertakwalah kepada Allah yang kepada-Nya lah kamu akan dikumpulkan”* (QS. al Ma’idah : 96).

Allah SWT telah menghalalkan semua makanan yang berasal dari laut sebagai tanda KekuasaanNya. Lafadz “*wa thoa’amuhu*” pada ayat di atas menurut Sufyan ibnu Uyaynah ialah semua makanan yang berasal dari dalam laut dan bermanfaat bagi manusia (Abdullah, 2007). Sekelompok ulama’ berkata

bahwa makanan (yang berasal) dari laut adalah garam laut yang terbentuk dari air laut dan berbagai jenis tumbuhan yang ada di dalam laut (Qurthubi, 2008).

Alga bermanfaat sebagai sumber makanan karena mengandung bahan-bahan organik. Sedangkan kandungan senyawa aktifnya bermanfaat sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit. Kandungan alginat dalam alga banyak dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan pelapis kapsul dan tablet di bidang industri farmasi. Kandungannya yang lain seperti senyawa metabolit sekunder saponin, tanin, flavonoid, steroid dan triterpenoid dilaporkan bahwa senyawaan tersebut berpotensi sebagai obat (Bachtiar, 2007). Fenomena ini telah disebutkan sebagaimana hadits yang diriwayatkan oleh Imam Ahmad (Fachruddin, 2001) :

تَدَاوُّوْا عِبَادَ اللَّهِ فَإِنَّ اللَّهَ تَعَالَى لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا أَوْضَعَ لَهُ دَوَاءً، غَيْرَ دَاءٍ وَاحِدٍ، أَهْرَمَ  
(رواه الإمام احمد).

*“Berobatlah kamu, hai hamba Allah, karena sesungguhnya Allah Ta’ala tidak mengadakan suatu penyakit melainkan mengadakan pula obatnya, selain sebuah penyakit, yaitu tua”* (Diriwayatkan oleh Imam ahmad).

Hadits tersebut membuktikan bahwa Allah SWT memberikan penyakit sekaligus obatnya, sehingga manusia yang berusaha dengan bersungguh-sungguh dalam mencari obat niscaya akan diberi kesembuhan oleh Allah SWT. Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa alga coklat jenis *S. vulgare* mengandung golongan senyawa steroid yang berpotensi sebagai bahan obat antibakteri terhadap bakteri patogen penyebab penyakit diare yaitu *E.coli* dan bakteri penyebab infeksi pada luka yaitu *S. aureus*.

Berdasarkan penelitian diketahui bahwa ekstrak alga coklat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E.coli* pada konsentrasi ekstrak 10 % dengan zona hambat yang dihasilkan sebesar 8,5 mm pada bakteri *S. aureus* dan 6 mm pada bakteri *E.coli*. Zona hambat terbaik diperoleh pada konsentrasi ekstrak yang paling tinggi karena dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak maka kuantitas senyawa atau zat aktif yang berperan sebagai antibakteri akan semakin banyak. Dengan demikian maka akan memberikan aktivitas antibakteri yang semakin besar. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam surat al Qamar yang menyebutkan bahwa segala sesuatu ciptaanNya yang ada di bumi ini sesuai dengan ukurannya masing-masing.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾ .

“*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (QS. al Qamar : 49).

Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberi hasanah mengenai kemahakuasaan Allah dalam menciptakan sesuatu tidaklah sia-sia. CiptaanNya dalam bentuk apapun pastilah terdapat manfaat yang bisa diambil dari dalamnya. Sehingga manusia dapat terus bersyukur atas nikmat yang telah diberikan sebagai wujud limpahan karunia dari Allah SWT.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Hasil hidrolisis ekstrak metanol alga coklat *S. vulgare* yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi adalah fraksi etil asetat dengan zona hambat 8,5 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan 6 mm terhadap bakteri *E. coli*.
2. Golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat alga coklat *S. vulgare* diduga adalah golongan senyawa steroid.

#### **5.2 Saran**

Sebaiknya pengujian kadar garam dilakukan pada ekstrak hasil maserasi, untuk mengetahui kadar garam yang terkandung dalam ekstrak setelah dilakukan ekstraksi. Ekstraksi menggunakan variasi pelarut organik lain perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak dalam pelarut yang berbeda. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan penggunaan bakteri uji dan metode uji yang lain, seperti metode dilusi cair.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2007. *Lubaabut Tafsir Min Ibni Katsir Jilid 5*. Penerjemah M. Abdul Ghafur dan Abu Ihsan al-Astsari. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Afif, S. 2013. Ekstraksi, Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Alga Merah *Eucheuma cottonii* Dari Perairan Sumenep Madura. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ajizah, A. 2008. Sensitifitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. *Bioscientiae*, Vol.1, No.1: 31-38.
- Alamsjah, M.A., Nurhayati, D. dan Thahjaningsih, W. 2011. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, Vol.3, No.1.
- Alfiyaturohmah. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Klorofom dan *n*-heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare* Asal Pantai Kapong Pamekasan Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Anonim. 2007. *Escherichia coli*. <http://www.astrographics.com/Gallery Prints Index/GP2144.html&h> (Diakses pada tanggal 24 Januari 2014).
- Anonim. 2007. *Staphylococcus aureus*. [http://cassiopeonline.it//staph\\_bacterium.html](http://cassiopeonline.it//staph_bacterium.html). (Diakses pada tanggal 24 Januari 2014).
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi edisi 4*. Jakarta: UI Press.
- Aripin, S. 2007. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Bunga Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) dan Uji Aktivasnya Sebagai Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Asih, I.A.R.A. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycine max*). *Jurnal Kimia*, Vol.3, No.1: 33-40.
- Asy-Syanqithi, S. 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Atmadja, W.S dan Soelistijo. 1988. *Beberapa Aspek Vegetasi dan Habitat Tumbuhan Laut Bentik di Pulau-pulau Seribu*. Jakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI.

- Atmadja, W.S. 1996. Pengenalan Jenis Algae Coklat (*Phaeophyta*) *Pengenalan Jenis-jenis Rumpun Laut Indonesia*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi-LIPI.
- Ayu, C. K. 2004. Study Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan pada 10 Merk Teh Hijau yang Beredar di Pasaran Kota Malang. *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.
- Bachtiar, E. 2007. *Penelusuran Sumber Daya Hayati (Alga) Sebagai Biotarget Industri*. Universitas Padjadran. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jatinangor.
- Bachtiar, S.Y., Tjahjaningsih, W. dan Sianita, N. 2012. Pengaruh *Ekstrak* Alga Coklat (*Sargassum sp.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal of Marine and Coastal Science*, Vol.1, No.1, 53-60.
- Bawa, I.G.A.G. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Daging Buah Pare (*Momordica charantia L.*). Bukit Jimbaran: FMIPA Universitas Udayana.
- Bengen, D. G. 2001. *Sinopsis Ekosistem dan Sumber Daya Alam Pesisir dan Laut*. Bogor: Pusat Kajian Sumber Daya Pesisir dan Lautan Institut Pertanian Bogor.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Bogoriani, N.W, Santi, S.R. dan Asih, R. 2007. Isolasi Senyawa Sitotoksik Dari Daun Andong (*Cordyline terminalis* Kunth). *Jurnal Kimia*. Vol. 1, No. 1: 1-6.
- Burke, R. W., Diamondstone, B. I., Velapoldi, R. A. and Menis, O. 1974. Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol. *CLIN. CHEM.* Vol.20, No.7.
- Cahyadi, W. 2009. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta. PT. Bumi Aksara.
- Cahyono, B., Huda, M.D.K. dan Limantara, L. 2011. Pengaruh Proses Pengeringan Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* ROXB) Terhadap Kandungan Dan Komposisi Kurkuminoid. *Reaktor*, Vol. 13, No. 3.
- Chapman, V.J. 1970. *Seaweeds and Their Uses*. London: Methuen & Co. LTD.
- Darwis, D. 2000. Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati. *Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam*

*Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*. Padang. FMIPA Universitas Andalas.

- Daud, M., Safii, W. dan Syamsu, K. 2012. Biokonversi Bahan Berlignoselulosa Menjadi Bioetanol Menggunakan *Aspergillus niger* Dan *Saccharomyces cereviciae*. *Jurnal Perennial*, Vol. 8, No. 2.
- Dinda. 2008. *Ekstraksi*. <http://www.mediafarma.com/ekstraksi>. Diakses pada tanggal 5 Juni 2013.
- Djamil, A. 2004. *Al-Qur'an dan Lautan*. Bandung: Penerbit Arasy PT Mizan Pustaka.
- Ekasari, W., Widyawaruyanti dan Hafid . F. 2005. Uji Antimalaria Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Daun *Siamea* pada Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei*. *Laporan Penelitian Tidak Diterbitkan*. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Eom, *et al.* 2011. Antimicrobial Activity of Brown Alga *Eisenia bicylics* against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fish Aquat Sci.* Vol.14, No.4.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan II*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Farouk, A.E., Faizal A.H.G. dan Ridzwan B.H. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*.
- Febriany, S. 2004. Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara In Vitro. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor: Fakultas MIPA IPB.
- Fessenden dan Fessenden. 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ganiswarna, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi Gaya Baru*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M. dan Schwarting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Edisi kedua. Penerjemah: Kokasih Padmawinta. Bandung: ITB Press.

- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Terjemahan Ketaren S. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Guiry, G.M. 2005. Algabase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algabase.org>; Dikases tanggal 12 Mei 2013.
- Gunawan, D. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gunawan, I.G.; Bawa, G. dan Sutrisnayanti. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Kimia* Vol.2, No.1. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana.
- Habibah, H. 2012. Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma spinosum* Pantai Lobuk Madura Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Handayani D., N. Sayuti dan Dachriyanus. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Epioksi Sterol dari Spon Laut *Petrosia nigrans*, Asal Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008*. Lampung: Universitas Lampung.
- Handoko, S.P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa Pada Variasi Suhu dan Jenis Asam Sebagai Katalis. *Sigma*, Vol. 9, No. 1: 9-17.
- Harborne, J. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Cetakan Kedua*. Penerjemah: Kokasih Padmawinta dan Iwang Soedira. Bandung: ITB Press.
- Harvey, F. 2009. Produksi Bioetanol Dari Limbah Karegenan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Harmita. 2008. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 1, No. 3: 117-135.
- Hudaya, S. dan Derajat, S. 1980. *Dasar-Dasar Pengawetan I*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.

- Indrayani, L., Soetjipto, H. dan Sihasale, L. 2006. Skrinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi*. Bandung: Yrama Widya.
- Izzati, M. 2007. Skreening Potensi Antibakteri Pada Beberapa Spesies Rumpuk Laut Terhadap Bakteri Patogen Pada Udang Windu. *Bioma*, Vol.9, No.2: 62-67.
- Jawetz, E., Adelberg E.A. dan Melnick J. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Edi Nugroho dan Maulana R.F. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Kadi, A. 2008. *Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum di Perairan Indonesia*. Jakarta: Bidang Sumberdaya Laut, Puslitbang Oseanologi-LIPI.
- Kahispama, R. 2011. *Klasifikasi alga (ganggang)*. <http://Klasifikasi-alga-ganggang.html> diakses 14 Mei 2013.
- Khanzada, A.K., Shaikh, W., Kazi, T.G., Kabir, S. and Soofia, S. 2007. Antifungal Activity, Elemental Analysis and Determination of Total Protein of Seaweed, *Solieria robusta* (Greville) Kylin From The Coast of Karachi. *Pak. J. Bot.*, Vol.39, No.3: 931-937.
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida. karya ilmiah*. Medan: Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Lestario, L.N., Sugiarto, S. dan Timotius, K.H. 2008. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolik total Dari Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa* L.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol.19, No.2.
- Lusiana, H. 2009. Isolasi dan Uji *Plasmodium* Secara *In Vitro* Senyawa Alkaloid dari *Albertisia papuana* BECC. *Tesis*. Bandung: Sekolah Pascasarjana ITB Bogor.
- Manilal, A., Sujith, S., Selvin, J., Kiran, G.S. and Shakir, C. 2009. In Vivo Antiviral Activity of Polysaccharide From the Indian Green Alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): Potential Implication in Shrimp Disease Management. *World Journal of Fish and Marine Science*, Vol.1, No.4: 278-282.

- Maunatin, A. 2013. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Malang: Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Miftahurrahmah. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* Dari Pesisir Laut Banyuwangi. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Morin, R.B dan Gorman, M. 1995. *Kimia dan Biologi Antibiotik  $\beta$ -lactam Edisi III*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Morina, A. 2007. Isolasi Senyawa Aktif Berkhasiat Sitotoksik Dari Daun Kemuning (*Murraya Panicullata* L. Jack). *Jurnal Gradien*. Vol. 3, No. 2: 262-267.
- Muscthler, 1991. *Dinamika Obat*. Terjemahan M.B. Widiyanto dan A.S Ranti. Bandung: ITB press.
- Muhimmah, A.A. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Dan *N*-Heksana Rumpun Laut Merah (*Eucheuma cottonii*) Pesisir Pantai Lobuk Madura Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mukhlisoh, W. 2010. *Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Terhadap Efektivitas Antibakteri Secara In Vitro*. *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mulyono. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT Bumi Aksara.
- Nihlati, I., Abdul, R. dan Triana, H. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci [*Boesenbergia pandurata* (roxb.) *Schlecht*] dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi* Diterbitkan. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Norziah, M.H. and Ching, C.Y. 2000. Nutritional Composition of Edible Seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chemistry*, 68: 69-76.
- Nuraini, F. 2002. Isolasi dan Identifikasi Tanaman dari Daun Gamal (*Gliricidia selum* (jackquin) Kunth ex Walp.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1. Alih Bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., Jakarta: UI Press.

- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Putri, K.H. 2011. Pemanfaatan Rumput Laut Coklat (*Sargasum sp.*) Sebagai Serbuk Minuman Pelangsing Tubuh. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Qurthubi, I. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi Jilid 10 Surah Al Hijr- Al Kahfi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Rachmat, R. 1999. Potensi Alga Coklat di Indonesia dan Prospek Pemanfaatannya. *Di dalam: Prosiding Pra Kipnas VII Forum Komunikasi Ikatan Fikologi Indonesia (IFI)*. Serpong : Gedung DRN.
- Rahayu P.W., Ma'oen S., Suliantari dan Fardiaz S. 1992. *Teknologi Fermentasi Produk Perikanan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Reveny, J. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper betle* Linn.). *Jurnal Ilmu Dasar*. Vol. 12, No.1.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Rosida dan Susiloningsih, E.K.B. 2007. Pengaruh Konsentrasi Starter *Lactobacillus Plantarum* dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas dan Kerusakan Produk Terasi. *Jurnal Protein*: Vol.15 No.2.
- Sa'adah, L., Hayati, E.K., dan Fasya, G. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*. Vol. 4, No. 2: 193-200.
- Salle, A. J. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi* 5<sup>th</sup> Edition. *MC Graw Hill Book Company Inc.*, New York. 414-418, 719-739.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Sidik, K., dan Soediro, S. 2012. *Analgetika Dalam Penapisan Farmakologi Pengujian Fitofarmaka dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Bahan Obat Alami Phyto Medica.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Ating-anting (*Acalypha indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp* (*Artemia salina* Leach). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sukadana, I.M. 2010. Aktifitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-awar (*Ficus septica* Burm F.). *Jurnal Kimia*. Vol. 4, No. 1: 63-70.
- Sulandi, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL). *Skripsi* Diterbitkan. Pontianak: Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Suryanti, V., Martiana, S.M., dan Kristinawati, D. 2005. Komponen Kimia Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.). *Jurnal Alchemy*. Vol. 4, No. 2: 28-34.
- Susilaningsih, R. 2007. Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*). *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan.
- Syamsudin, Tjokrosonto, S., Wahyuono, S. dan Mustofa. 2007. Aktivitas Antiplasmodium Dari Dua Fraksi Ekstrak *n*-Heksana Kulit Batang Asam Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol.18, No. 4.
- Tensiska, Marsetio dan Yudiastuti, S.O.N 2007. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon Dari Ampas Tahu. *Hasil Penelitian*. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Tjondronegoro, P.D., Natasaputra, M., Kusumaningrat, T., Gunawan, A.W., Jaelani, M. dan Suwanto, A. 1989. *Botani Umum II*. Bogor: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat Institut Pertanian Bogor.
- Vogel. 1985. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimakro*. Penerjemah: L. Setiono dan Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka.
- Volk dan Wheeler.1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.
- Windholz, M., Budavari, S., Blumetti, R.F. and Otterbein, E.S. 1983. *The Merck Index an Enclopedia of Chemicals Drugs and Biologicals 10<sup>th</sup> Edition*. Merck and Co. Inc. USA.
- Yulia, R. 2006. Kandungan Tanin dan Potensi Anti *Streptococcus mutans* Daun Teh Var. *Assamica* Pada Berbagai Tahap Pengolahan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Yuningsih, R. 2007. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jawer Kotok (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Yunizal. 2004. *Teknik Pengolahan Alginat*. Jakarta: Pusat Riset Pengolahan.

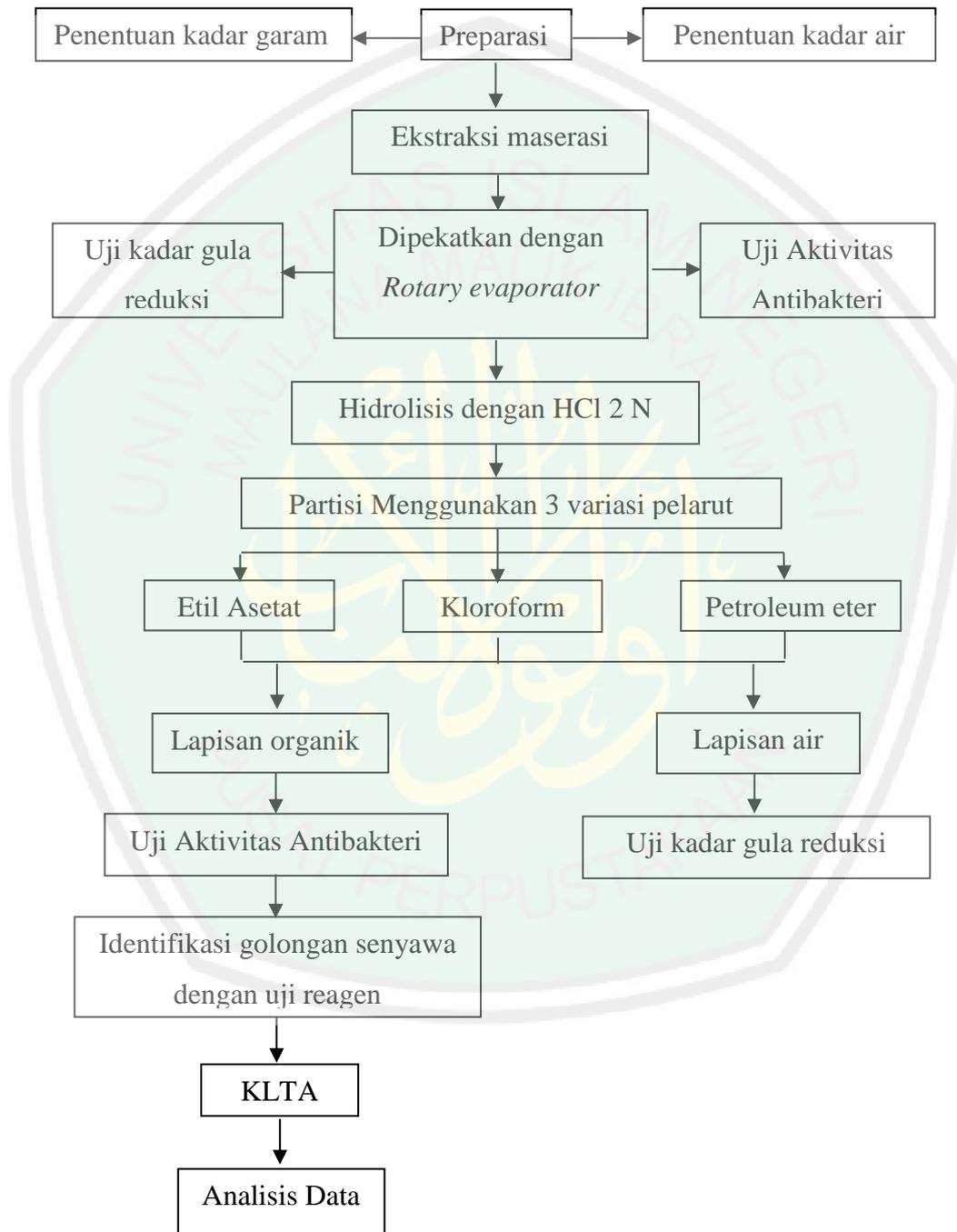
Zandi, K., Saeed, T., Iraj, N., Zahra, R., Forough, Y., Samin, S. and Kohzad, S. 2010. In Vitro Antitumor Activity of *Gracilaria corticata* (a red alga) Against Jurkat and Molt-4 Human Cancer Cell Lines. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9, No. 40: 6787-6790.

Zulaikhah, S. 2013. Pemurnian Enzim Selulase Kasar Dari Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi Bekatul Secara Parsial Dengan Ammonium Sulfat. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.



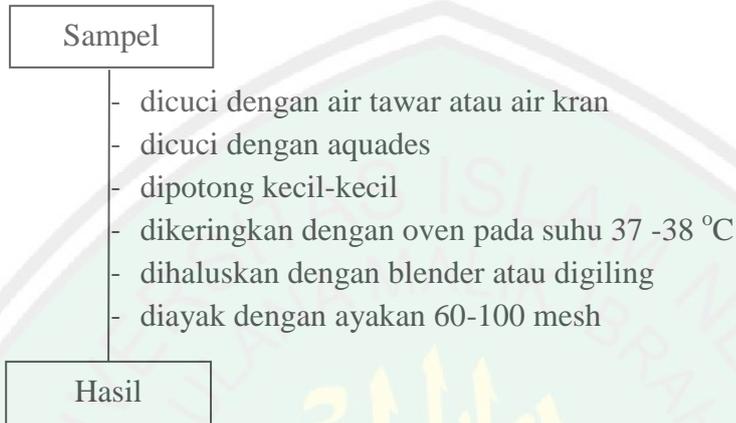
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian

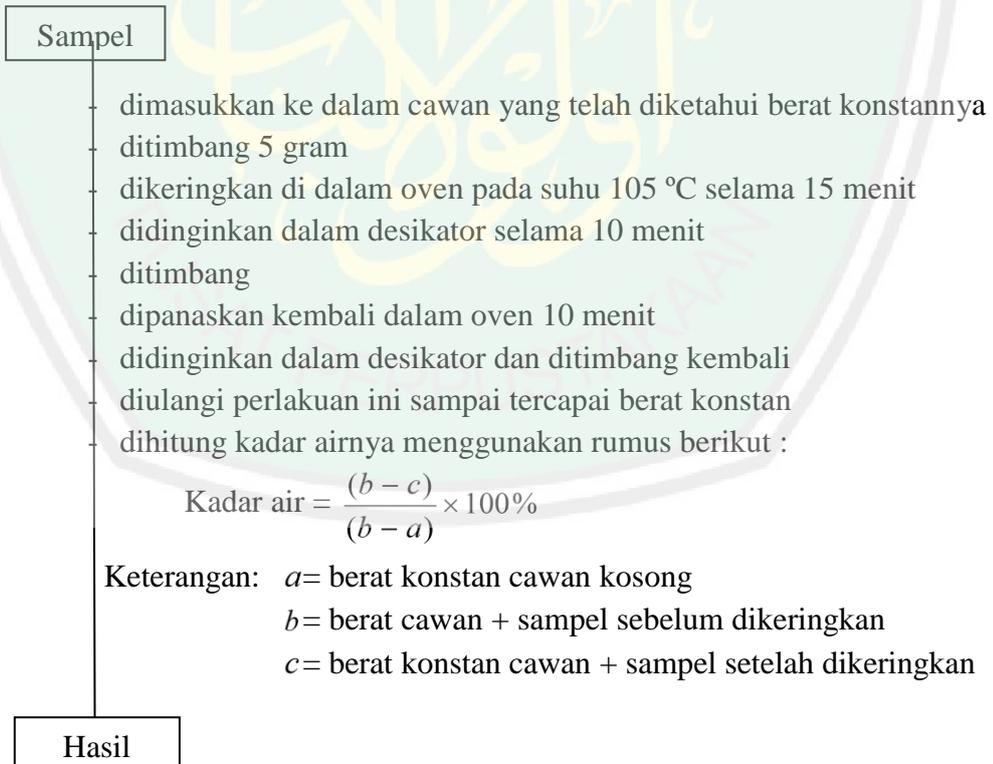


## Lampiran 2. Skema Kerja

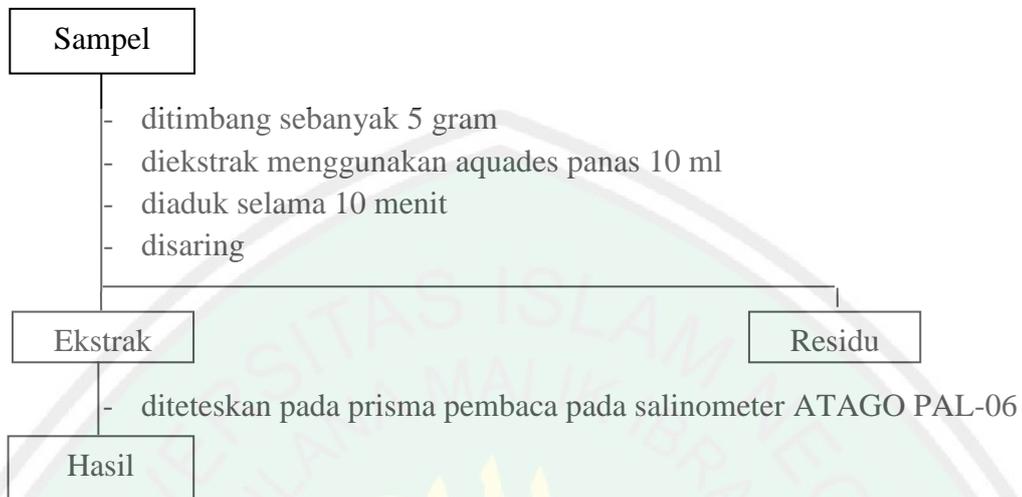
### 1. Preparasi Sampel



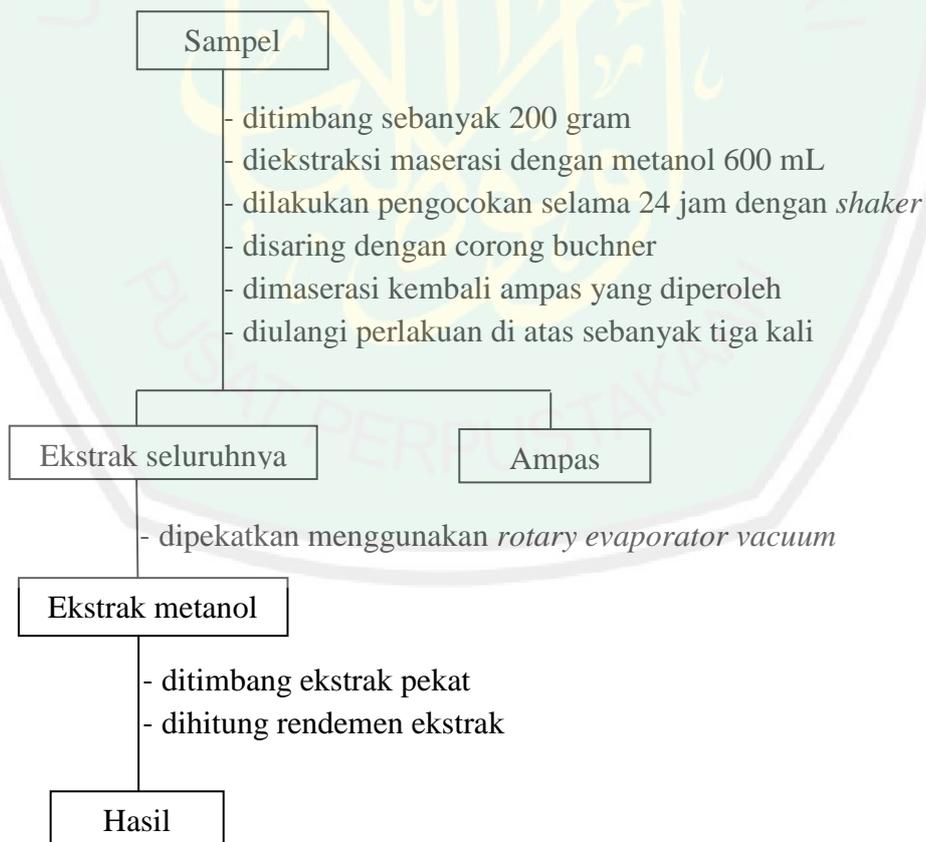
### 2. Analisis Kadar Air



### 3. Analisis Kadar Garam



### 4. Ekstraksi Maserasi



Ekstrak metanol

- dihidrolisis 7 gram ekstrak metanol dengan 14 mL HCl 2 N
- ditambahkan natrium bikarbonat hingga pH netral
- dipartisi dengan pelarut etil asetat, kloroform, dan petroleum eter masing-masing 25 mL
- dipekatkan ekstrak hasil partisi menggunakan *rotary evaporator*
- ditimbang ekstrak yang diperoleh
- dihitung rendemennya

Hasil

## 5. Uji Kadar Gula Reduksi

### 5.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum

larutan glukosa 10 ppm

- diambil 1 mL ke dalam tabung reaksi
- ditambah 1 mL pereaksi DNS
- dipanaskan selama 15 menit
- ditambah 1 mL KNaTartrat dan ditandabatkan sampai 10 mL
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500-600 nm

Hasil

### 5.2 Pembuatan Kurva Standar

larutan glukosa standar

- Diambil 1 mL larutan glukosa standar 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm
- ditambah 1 mL pereaksi DNS
- dipanaskan selama 15 menit
- ditambah 1 mL KNaTartrat dan ditandabatkan sampai 10 mL
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum

Hasil

### 5.3 Analisis Gula Reduksi Ekstrak Sebelum dan Setelah Hidrolisis

Ekstrak metanol dan lapisan air hasil hidrolisis partisi

- diambil 1 mL lapisan air ke dalam tabung reaksi
- ditambah 1 mL pereaksi DNS
- dipanaskan selama 15 menit
- ditambah 1 mL KNaTartrat dan ditandabatkan sampai 10 mL
- diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum

Hasil

## 6. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

### 6.1 Pembuatan Media Padat

Serbuk Nutrien Agar

- diambil dan ditimbang seberat 2,3 gram
- dimasukkan dalam beaker gelas dan dilarutkan dengan 100 mL aquades
- dipanaskan sampai mendidih
- dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- ditutup dengan kapas dan plastik warp
- disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C

Hasil

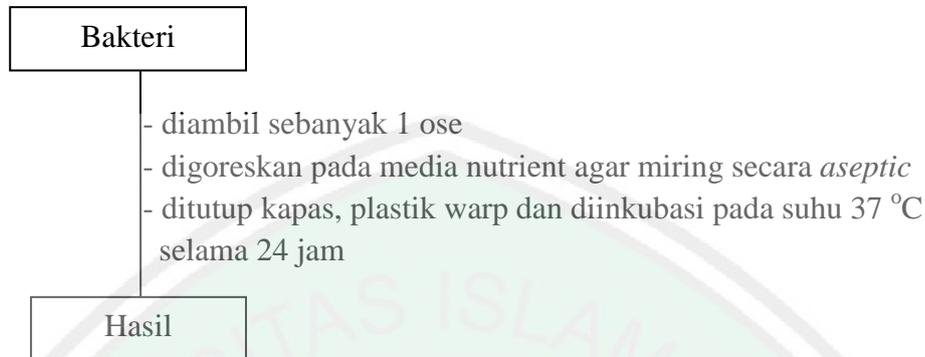
### 6.2 Pembuatan Media Cair

Serbuk Nutrien Broth

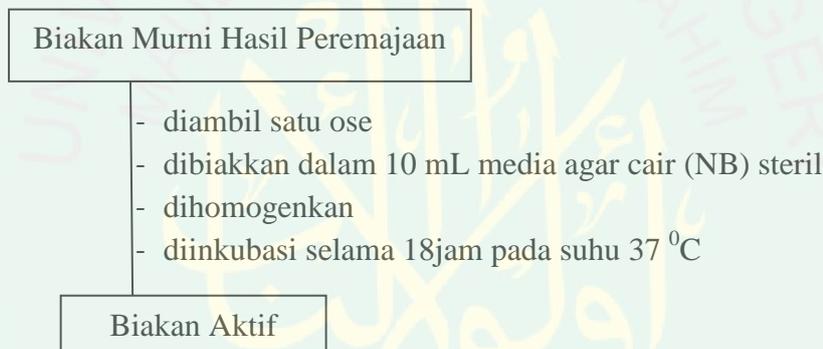
- diambil dan ditimbang seberat 0,9 gram
- dimasukkan dalam beaker gelas dan dilarutkan dengan 100 mL aquades
- dipanaskan sampai mendidih
- dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- ditutup dengan kapas dan plastik warp disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C

Hasil

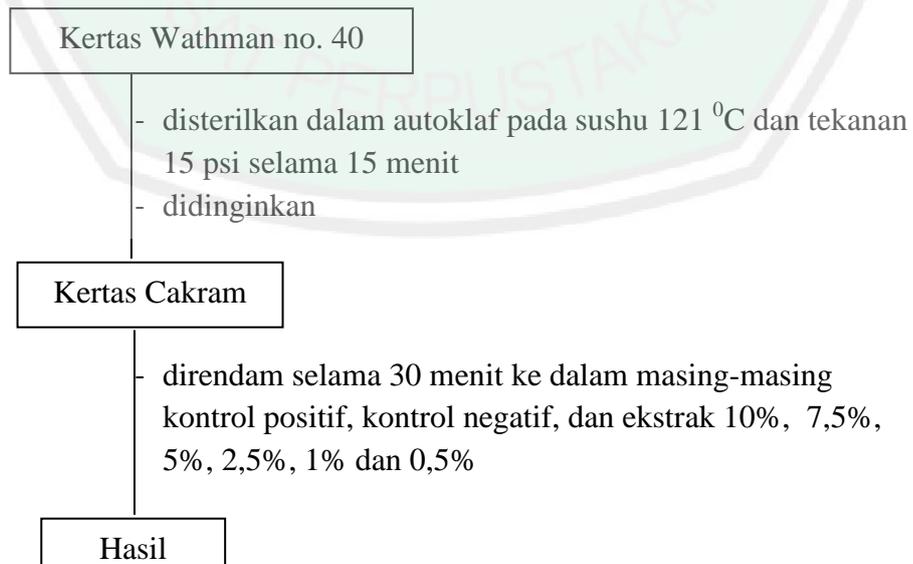
### 6.3 Peremajaan Biakan Murni



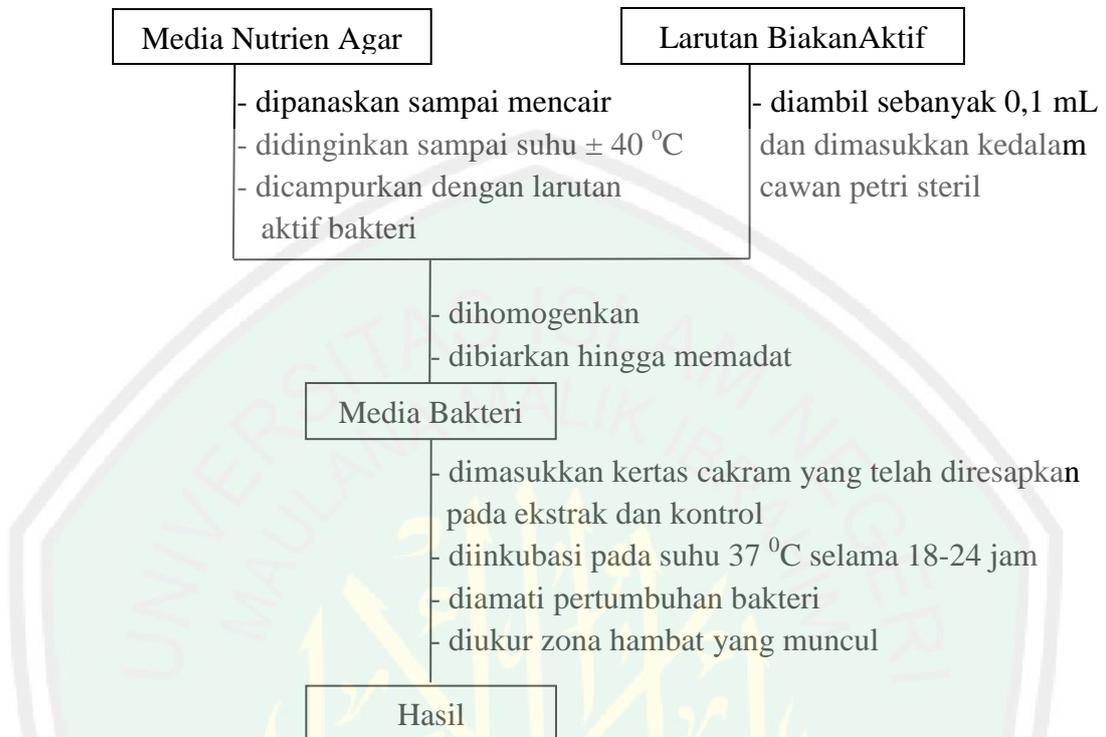
### 6.4 Pembuatan Larutan Biakan Aktif



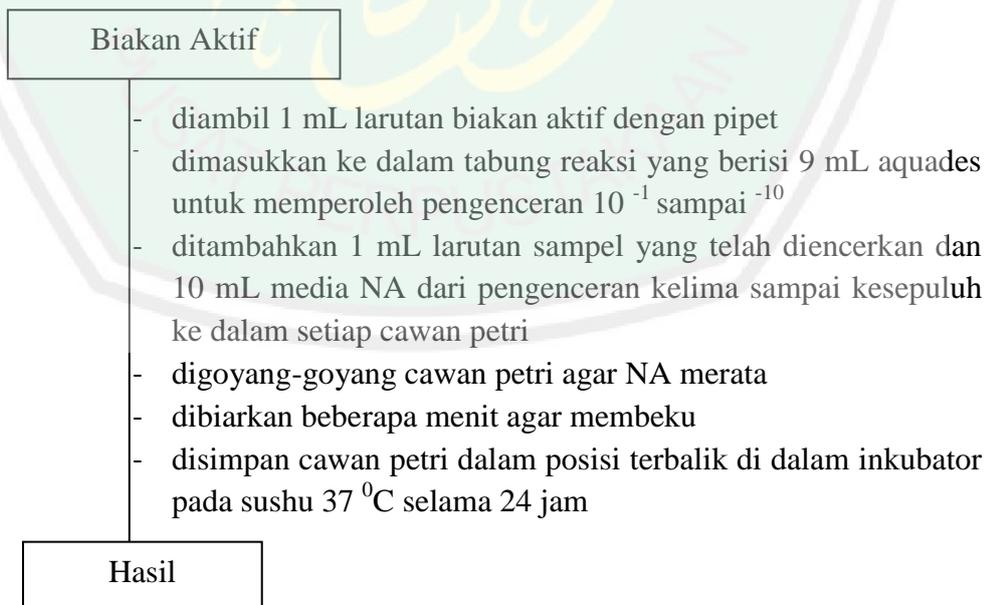
### 6.5 Pembuatan dan Peresapan Kertas Cakram



## 6.6 Uji Antibakteri

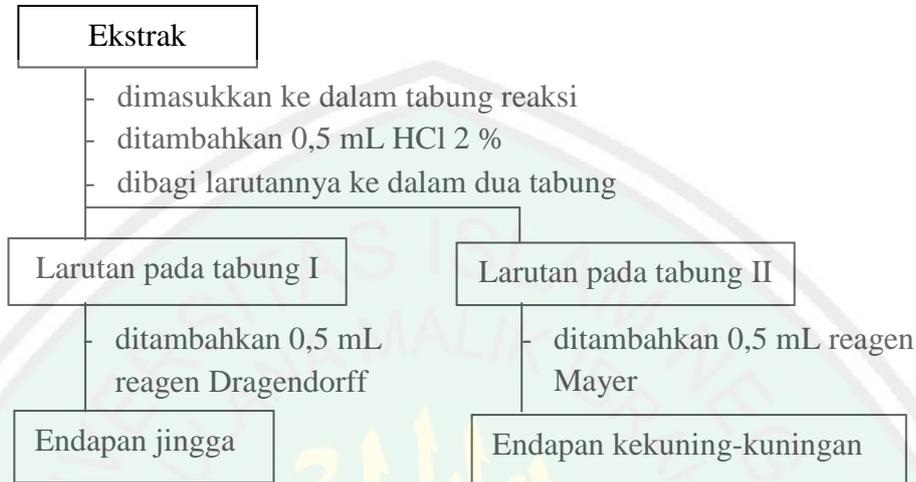


## 6.7 Penentuan Jumlah Bakteri Menggunakan TPC

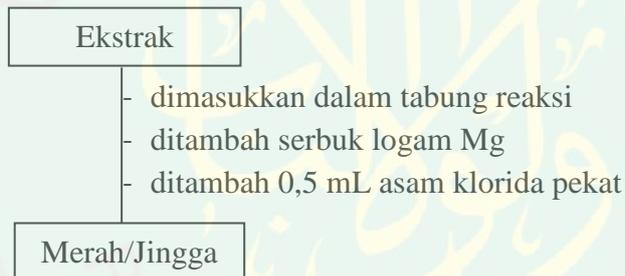


## 7. Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen

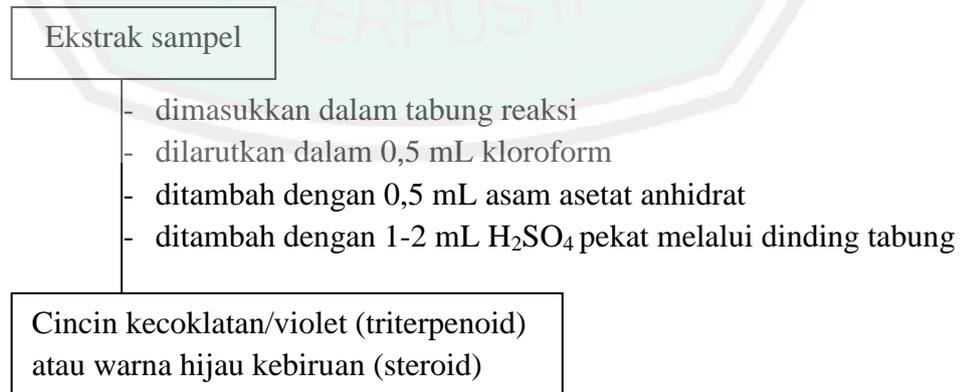
### 7.1 Uji Alkaloid



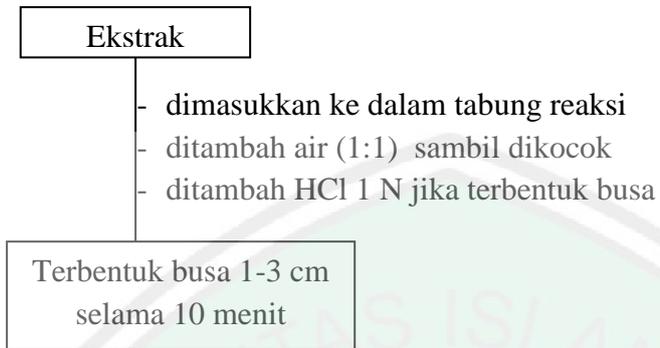
### 7.2 Uji Flavonoid



### 7.3 Uji Triterpenoid/Steroid

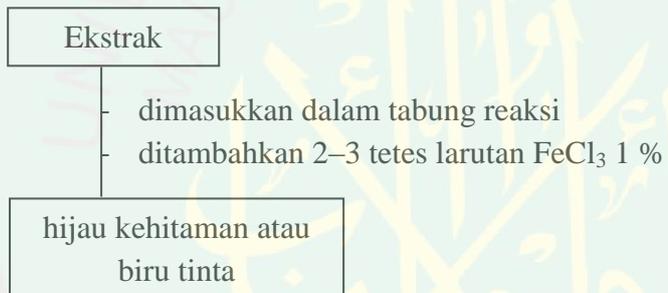


#### 7.4 Uji Saponin



#### 7.5 Uji Tanin

##### 7.5.1 Uji dengan FeCl<sub>3</sub>



##### 7.5.2 Uji dengan Gelatin



## 8. Pemisahan Senyawa Aktif Dengan Cara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

### Ekstrak Sampel

- diaktifkan plat KLT di dalam oven pada suhu 100 °c selama 10 menit
- dibuat garis batas atas dan batas bawah plat
- ditotolkan ekstrak pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat
- dikeringkan dan dielusi dengan eluen yang sesuai dengan golongan senyawa hasil uji fitokimia
- dihentikan elusi setelah fasa gerak mencapai garis batas atas (1 cm dari tepi atas plat)
- diperiksa noda dibawah sinar uv pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm
- dideteksi dengan reagen pendeteksi dan diperiksa lagi dengan sinar uv pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm

### Hasil

### Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan Ekstrak

#### 1. Pembuatan larutan HCl 2 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37 \%$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^{\text{+}}\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{37 \% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}}$$

$$= \frac{37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$12,09 \text{ N} \cdot V_1 = 2 \text{ N} \cdot 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 16,5 \text{ mL}$$

HCl pekat 37 % diambil sebanyak 16,5 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang berisi 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

#### 2. Pembuatan HCl 2 %

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$37 \% \cdot V_1 = 2 \% \cdot 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL}$$

Adapun prosedur pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 0,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL yang berisi 5

mL aquades. Selanjutnya ditambah aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

### 3. Pembuatan Reagen Dragendorff

- Larutan I. 0,6 gram  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .
- Larutan II. 6 gram KI dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 0,6 gram  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 6 gram KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

### 4. Pembuatan Reagen Mayer

- Larutan I.  $\text{HgCl}_2$  1,358 gram dalam aquades 60 mL.
- Larutan II. KI 5 gram dalam aquades 10 mL.

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan  $\text{HgCl}_2$  1,358 gram yang dilarutkan dengan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan KI 5 gram yang dilarutkan dengan aquades 10 mL. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL.

### 5. Pembuatan Reagen Liberman-Buchard

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat 5 mL dan anhidrida asetat 5 mL dicampur ke dalam metanol absolut 50 mL, kemudian didinginkan dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan.

## 6. Pembuatan metanol 50 %

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 99,8 \% \times V_1 &= 50 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi  $\pm$  5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

## 7. Pembuatan FeCl<sub>3</sub> 1 %

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{g terlarut}}{\text{g terlarut} + \text{g pelarut}} \times 100 \%$$

$$\text{g terlarut} + \text{g pelarut} = \frac{\text{g terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100 \%$$

$$1 \text{ g} + \text{g pelarut} = \frac{1 \text{ g}}{1 \%} \times 100 \%$$

$$\text{g pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g}$$

$$\text{volume pelarut} = \frac{\text{g pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/ml}} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dengan 99 mL aquades.

## 8. Pembuatan Larutan Gelatin

Cara pembuatan larutan gelatin adalah 2,5 g serbuk gelatin dicampur dengan 50 mL larutan garam NaCl jenuh, kemudian dipanaskan sampai gelatin larut seluruhnya. Setelah dingin, ditambahkan larutan NaCl jenuh kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 mL dan dikocok hingga homogen.

### 9. Pembuatan $\text{NH}_3$ 10 %

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 50 \% \times V_1 &= 10 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 2 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan  $\text{NH}_3$  50 % sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi  $\pm$  5 mL aquades. Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

### 10. Pembuatan Pereaksi DNS

- Larutan I. 0,1 gr asam 3,5-dinitrosalisilat, 0,02 gr fenol, 0,1 gr NaOH dan 0,005 gr natrium sulfit dalam 10 mL aquades.
- Larutan II. 4 gr K-Natrium Tartarat dalam 10 mL aquades.

Cara membuatnya adalah dengan mencampur semua bahan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* agar seluruh bahan tercampur merata, kemudian ditandabatkan dalam labu takar 10 mL.

### 11. Pembuatan Larutan Konsentrasi Ekstrak

- Pembuatan larutan stok 10 % sebanyak 5 mL

$$\begin{aligned} \% &= \frac{\text{gram}}{\text{mL}} \\ 10 \% &= \frac{\text{gram}}{5 \text{ mL}} \\ \text{gram} &= 5 \text{ mL} \times \frac{10}{100 \text{ mL}} \\ &= 0,5 \text{ gram} \end{aligned}$$

- Untuk konsentrasi 7,5 % sebanyak 5 mL

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\10 \% \times V_1 &= 5 \text{ mL} \times 7,5 \% \\V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \times 7,5 \%}{10 \%} \\V_1 &= 3,75 \text{ mL}\end{aligned}$$

- Untuk konsentrasi 5 % sebanyak 5 mL

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\7,5 \% \times V_1 &= 5 \text{ mL} \times 5 \% \\V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \times 5 \%}{7,5 \%} \\V_1 &= 3,34 \text{ mL}\end{aligned}$$

- Untuk konsentrasi 2,5 % sebanyak 5 mL

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\5 \% \times V_1 &= 5 \text{ mL} \times 2,5 \% \\V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \times 2,5 \%}{5 \%} \\V_1 &= 2,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

- Untuk konsentrasi 1 % sebanyak 5 mL

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\2,5 \% \times V_1 &= 5 \text{ mL} \times 1 \% \\V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \times 1 \%}{2,5 \%} \\V_1 &= 2 \text{ mL}\end{aligned}$$

- Untuk konsentrasi 0,5 % sebanyak 5 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$\begin{aligned}1 \% \times V_1 &= 5 \text{ mL} \times 1 \% \\V_1 &= \frac{5 \text{ mL} \times 0,5 \%}{1 \%} \\V_1 &= 2,5 \text{ mL}\end{aligned}$$



## Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air

### 4.1 Data Analisis Kadar Air Sampel Basah Alga Coklat *S. vulgare*

Analisis	Berat (gr)				Rata-rata (gr)
	Sebelum dioven	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	
Cawan kosong	53,097	53,095	53,095	53,095	53,095
Cawan + Serbuk sampel	58,093	53,911	53,905	53,905	53,907

#### ➤ Perhitungan Kadar Air Sampel Basah

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi}$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan + sampel setelah dikeringkan

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100 \% \\ &= \frac{58,093 \text{ gram} - 53,907 \text{ gram}}{58,093 \text{ gram} - 53,097 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 83,797 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100 \% - 83,797 \%} \\ &= 6,171 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\ &= 83,797\% - 6,171 \% \\ &= 77,625 \% \end{aligned}$$

#### 4.2 Data Analisis Kadar Air Sampel Kering Alga Coklat *S. vulgare*

Analisis	Berat (gr)				Rata-rata (gr)
	Sebelum dioven	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	
Cawan kosong	53,817	53,810	53,809	53,809	53,809
Cawan + Sampel serbuk	58,812	58,310	58,277	58,277	58,288

##### ➤ Perhitungan Kadar Air Sampel Kering

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{b-c}{b-a} \times 100 \% \\ &= \frac{58,812 \text{ gram} - 58,288 \text{ gram}}{58,812 \text{ gram} - 53,809 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 10,469 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100 - \% \text{kadar air}} \\ &= \frac{100}{100 \% - 10,469 \%} \\ &= 1,116 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi} \\ &= 10,469 \% - 1,116 \% \\ &= 9,352 \% \end{aligned}$$

## Lampiran 5. Perhitungan Kadar Garam

### ➤ Serbuk kering

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
<i>Sargassum vulgare</i>	13 ‰	13 ‰	13 ‰	13 ‰

$$13 \text{ ‰} = 13 \text{ PPT}$$

$$13 \text{ PPT} = \text{g/L}$$

$$\text{g} = 13 \times 0,06$$

$$= 0,78$$

$$\% \text{ kadar garam} = \frac{\text{massa garam terlarut (gr)}}{\text{massa sampel awal (gr)}} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,78 \text{ gr}}{5 \text{ gr}} \times 100 \%$$

$$= 15,6 \%$$

## Lampiran 6. Perhitungan Rendemen

### 6.1 Rendemen Ekstrak Kasar Metanol

Diketahui:

Berat gelas vial kosong	= 92,260 gram
Berat gelas vial + ekstrak pekat	= 121,914 gram
Berat ekstrak	= 29,654 gram
Berat sampel	= 200,010 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{29,654 \text{ gram}}{200,010 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 14,8 \% \end{aligned}$$

### 6.2 Rendemen Fraksi Hasil Partisi

Pelarut	Warna filtrate	Warna ekstrak pekat	Rendemen (%)
Etil asetat	Hijau kecoklatan	Coklat kehitaman	26,3
Kloroform	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	27
Petroleum eter	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	25,3

#### 1) Fraksi Etil Asetat

Diketahui:

Berat gelas vial kosong	= 90,771 gram
Berat gelas vial + ekstrak pekat	= 92,621 gram
Berat ekstrak	= 1,85 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,85 \text{ gram}}{7,026 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 26,3 \% \end{aligned}$$

#### 2) Fraksi Kloroform

Diketahui:

Berat gelas vial kosong	= 88,069 gram
-------------------------	---------------

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 89,989 gram

Berat ekstrak = 1,92 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,92 \text{ gram}}{7,107 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 27 \%\end{aligned}$$

### 3) Fraksi Petroleum Eter

Diketahui:

Berat gelas vial kosong = 88,726 gram

Berat gelas vial + ekstrak pekat = 90,506 gram

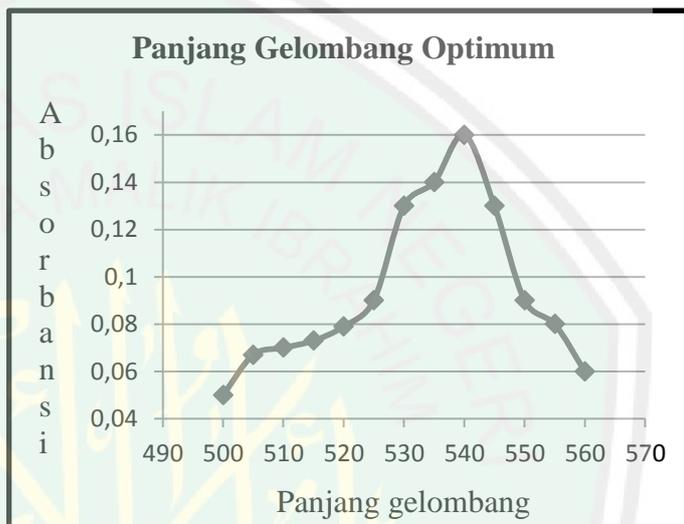
Berat ekstrak = 1,78 gram

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,78 \text{ gram}}{7,03 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 25,3 \%\end{aligned}$$

## Lampiran 7. Perhitungan Kadar Gula Reduksi Metode DNS

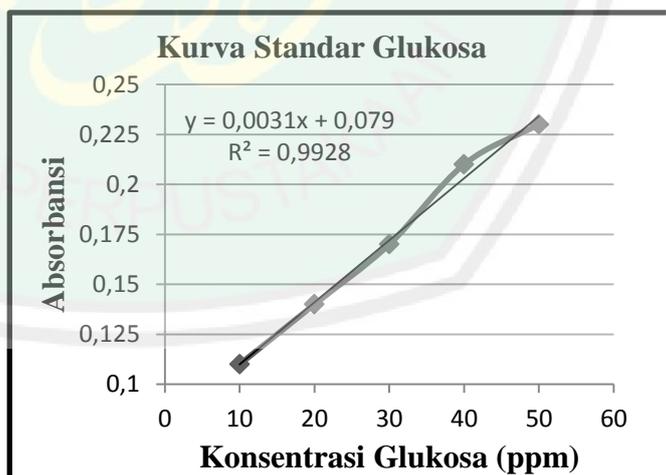
### 1. Penentuan panjang gelombang optimum

Panjang gelombang ( $\lambda$ )	Absorbansi
500	0,05
505	0,067
510	0,07
515	0,073
520	0,079
525	0,09
530	0,13
535	0,14
540	0,16
545	0,13
550	0,09
555	0,08
560	0,06



### 2. Pembuatan kurva standar

Konsentrasi Glukosa (ppm)	Absorbansi
10	0,11
20	0,14
30	0,17
40	0,21
50	0,23



### 3. Analisis gula reduksi ekstrak sebelum dan setelah hidrolisis

Sampel	Total gula (ppm)
Ekstrak metanol	26,1
Fase air etil asetat	11,3
Fase air kloroform	16,4
Fase air petroleum eter	13,8

Diketahui :

$$\text{Absorbansi ekstrak kasar metanol} = 0,16$$

$$\text{Absorbansi fase air fraksi etil asetat} = 0,114$$

$$\text{Absorbansi fase air fraksi kloroform} = 0,13$$

$$\text{Absorbansi fase air fraksi petroleum eter} = 0,122$$

$$0,13 - 0,079 = 0,0031x$$

➤ **Ekstrak kasar metanol**

$$y = 0,0031x + 0,079$$

$$0,16 = 0,0031x + 0,079$$

$$0,16 - 0,079 = 0,0031x$$

$$x = \frac{0,081}{0,0031}$$

$$x = 26,1 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{0,051}{0,0031}$$

$$x = 16,4 \text{ ppm}$$

➤ **Fase air fraksi petroleum eter**

$$y = 0,0031x + 0,079$$

$$0,122 = 0,0031x + 0,079$$

$$0,122 - 0,079 = 0,0031x$$

$$x = \frac{0,043}{0,0031}$$

$$x = 13,8 \text{ ppm}$$

➤ **Fase air fraksi etil asetat**

$$y = 0,0031x + 0,079$$

$$0,114 = 0,0031x + 0,079$$

$$0,114 - 0,079 = 0,0031x$$

$$x = \frac{0,035}{0,0031}$$

$$x = 11,3 \text{ ppm}$$

➤ **Fase air fraksi kloroform**

$$y = 0,0031x + 0,079$$

$$0,13 = 0,0031x + 0,079$$

## Lampiran 8. Perhitungan Jumlah Bakteri dan Uji Aktivitas Antibakteri

### 8.1 Perhitungan Jumlah Bakteri dengan TPC

➤ Hasil OD (*Optical density*)

Panjang Gelombang (nm)	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
600	0,002	0,01

➤ Hasil TPC

	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	Jumlah bakteri
<i>S. aureus</i>	288	217	174	159	126	104	2,88x10 <sup>8</sup>
<i>E. coli</i>	TBUD	296	294	238	183	180	2,96x10 <sup>8</sup>

$$S. aureus = \frac{217}{288} = 7,53 > 2 \text{ maka mengikuti pengenceran terendah} = 2,88 \times 10^8$$

$$E. coli = \frac{294}{296} = 9,9 > 2 \text{ maka mengikuti pengenceran terendah} = 2,96 \times 10^8$$

### 8.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Alga Coklat *S. vulgare*

➤ Ekstrak kasar metanol

Kosentrasi (%)	Zona hambat <i>E. coli</i> (mm)			Rata-rata	Zona hambat <i>S. aureus</i> (mm)			Rata-rata
	I	II	III		I	II	III	
0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	1,5	-	0,5
7,5	-	-	-	-	-	5	-	1,67
10	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptomisin (0,6)	13,4	13,5	13,5	13,5				
Penisilin (2,5)					25	25	25	25
Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-	-	-



➤ Fraksi petroleum eter

Kosentrasi (%)	Zona hambat <i>E. coli</i> (mm)			Rata-rata	Zona hambat <i>S. aureus</i> (mm)			Rata-rata
	I	II	III		I	II	III	
0,5	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
7,5	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	4,5	-	1,5
Streptomisin (0,6)	13,4	13,5	13,5	13,5				
Penisilin (2,5)					25	25	25	25
Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-	-	-

## Lampiran 9. Analisis Data

### 9.1 Uji Two Way ANOVA

#### A. Terhadap bakteri *S. aureus*

Source	DF	SS	MS	F	P
Konsentrasi	5	16,442	3,2884	1,52	0,241
Pelarut	3	52,670	17,5566	8,13	0,002
Error	15	32,391	2,1594		
Total	23	101,503			

$$S = 1,469 \quad R-Sq = 68,09\% \quad R-Sq(adj) = 51,07\%$$

Analisis kelompok variasi pelarut:

$$\text{nilai } F_{\text{hitung}} = 8,13 \quad \text{P-Value} = 0,002$$

$$\text{nilai } F_{\text{tabel}(3,15)} = 3,29$$

Analisis perlakuan variasi konsentrasi:

$$\text{nilai } F_{\text{hitung}} = 1,52 \quad \text{P-Value} = 0,241$$

$$\text{nilai } F_{\text{tabel}(5,15)} = 2,90$$

✓ Pengambilan keputusan menggunakan statistik uji:

- 1)  $F_{\text{hitung}} (8,13) > F_{\text{tabel}} (3,29)$  maka  $H_0$  ditolak berarti kelompok variasi pelarut berpengaruh nyata.
- 2)  $F_{\text{hitung}} (1,52) < F_{\text{tabel}} (2,90)$  maka  $H_0$  diterima berarti perlakuan variasi konsentrasi ekstrak tidak berpengaruh nyata.

✓ Pengambilan keputusan menggunakan P-Value dibandingkan dengan taraf signifikansi 5%:

- 1) P-Value pada kelompok adalah  $0,002 < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak berarti kelompok variasi pelarut berpengaruh nyata.
- 2) P-Value pada perlakuan adalah  $0,241 > 0,05$  maka  $H_0$  diterima berarti perlakuan variasi konsentrasi tidak berpengaruh nyata.

### B. Terhadap bakteri *E.coli*

Source	DF	SS	MS	F	P
Konsentrasi	5	8,6655	1,73309	1,00	0,451
Pelarut	3	25,0986	8,36620	4,83	0,015
Error	15	25,9964	1,73309		
Total	23	59,7605			

$$S = 1,316 \quad R-Sq = 56,50\% \quad R-Sq(adj) = 33,30\%$$

Analisis kelompok variasi pelarut:

$$\text{nilai } F_{\text{hitung}} = 4,83 \quad \text{P-Value} = 0,015$$

$$\text{nilai } F_{\text{tabel}(3,15)} = 3,29$$

Analisis perlakuan variasi konsentrasi:

$$\text{nilai } F_{\text{hitung}} = 1,00 \quad \text{P-Value} = 0,451$$

$$\text{nilai } F_{\text{tabel}(5,15)} = 2,90$$

✓ Pengambilan keputusan menggunakan statistik uji:

- 1)  $F_{\text{hitung}} (4,83) > F_{\text{tabel}} (3,29)$  maka  $H_0$  ditolak berarti kelompok variasi pelarut berpengaruh nyata.
- 2)  $F_{\text{hitung}} (1,00) < F_{\text{tabel}} (2,90)$  maka  $H_0$  diterima berarti perlakuan variasi konsentrasi ekstrak tidak berpengaruh nyata.

✓ Pengambilan keputusan menggunakan P-Value dibandingkan dengan taraf signifikansi 5%:

- 1) P-Value pada kelompok adalah  $0,015 < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak berarti kelompok variasi pelarut berpengaruh nyata.
- 2) P-Value pada perlakuan adalah  $0,451 > 0,05$  maka  $H_0$  diterima berarti perlakuan variasi konsentrasi tidak berpengaruh nyata.

## 9.2 Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

### A. Terhadap bakteri *S. aureus*

pelarut	N	Mean	Grouping
etil asetat	6	3,61167	A
metanol	6	0,36167	B
petroleum eter	6	0,25000	B
kloroform	6	-0,00000	B

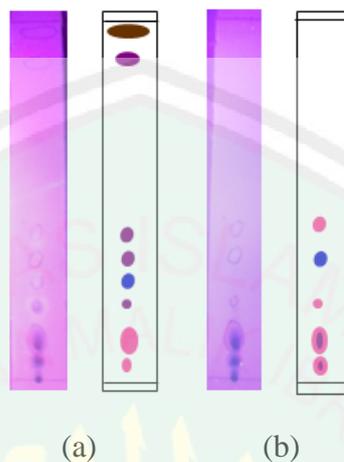
### B. Terhadap bakteri *E. coli*

pelarut	N	Mean	Grouping
etil asetat	6	2,36167	A
metanol	6	0,00000	B
kloroform	6	-0,00000	B
petroleum eter	6	-0,00000	B

Berdasarkan hasil pengujian statistika, diperoleh bahwa penggunaan pelarut petroleum eter memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan pelarut lainnya. Sedangkan pelarut metanol, etil asetat dan kloroform tidak memberikan beda nyata. Dengan demikian, maka dapat dikatakan bahwa petroleum eter merupakan pelarut yang direkomendasikan sebagai pelarut untuk mengekstrak senyawa yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

## Lampiran 10. Pemisahan Golongan Senyawa Steroid dengan KLTA

### a. Eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1)



Tabel 9.1 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid fraksi etil asetat *S. vulgare* dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (9:1)

No	Rf (cm)	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard (a)	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard (b)	
1	0,05	Merah muda tengah ungu	Merah muda	-
2	0,11	Merah muda tengah ungu	Merah muda	-
3	0,2	Merah muda	Ungu	Steroid
4	0,26	-	Biru	-
5	0,32	Biru	Ungu	Steroid
6	0,4	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,87	-	Ungu	Steroid
8	0,96	-	Coklat	-

Perhitungan  $R_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$

$$R_{f1} = 0,4/8 = 0,05$$

$$R_{f2} = 0,9/8 = 0,11$$

$$R_{f3} = 1,6/8 = 0,2$$

$$R_{f4} = 2,1/8 = 0,26$$

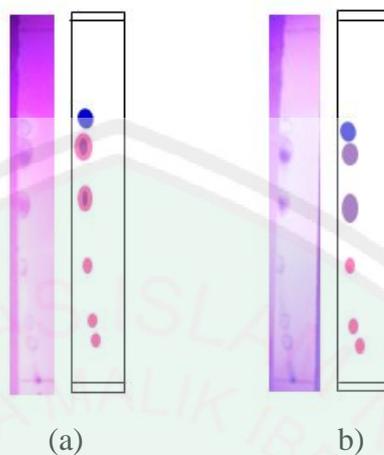
$$R_{f5} = 2,6/8 = 0,32$$

$$R_{f6} = 3,2/8 = 0,4$$

$$R_{f7} = 7/8 = 0,87$$

$$R_{f8} = 7,7/8 = 0,96$$

**b. Eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4)**



Tabel 9.2 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid fraksi etil asetat *S. vulgare* dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (6:4)

No	Rf (cm)	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard (a)	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard (b)	
1	0,15	Merah muda	Merah muda	-
2	0,2	Merah muda	Merah muda	-
3	0,35	Merah muda	Merah muda	-
4	0,48	Merah muda tengah ungu	Ungu	Steroid
5	0,67	Merah muda tengah ungu	Ungu	Steroid
6	0,72	Biru	Biru	-

Perhitungan  $R_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$

$$R_{f1} = 1,2/8 = 0,15$$

$$R_{f2} = 1,6/8 = 0,2$$

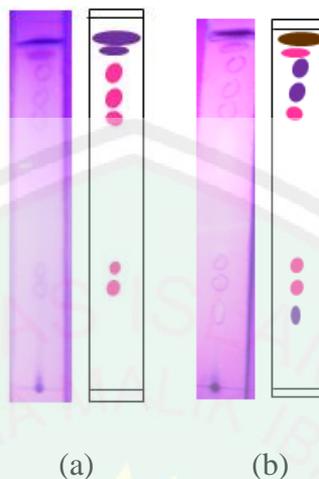
$$R_{f3} = 2,8/8 = 0,35$$

$$R_{f4} = 3,9/8 = 0,48$$

$$R_{f5} = 5,4/8 = 0,67$$

$$R_{f6} = 5,8/8 = 0,72$$

c. Eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3)



Tabel 9.3 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid fraksi etil asetat *S. vulgare* dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3)

No	Rf (cm)	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard (a)	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard (b)	
1	0,2	-	Ungu	-
2	0,27	Merah muda	Merah muda	-
3	0,32	Merah muda	Merah muda	-
4	0,72	Merah muda	Merah muda	-
5	0,78	Merah muda	Ungu	-
6	0,85	Merah muda	Ungu	-
7	0,91	Ungu	Merah muda	-
8	0,95	Ungu	Coklat	-

Perhitungan Rf =  $\frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$

$$Rf_1 = 1,6/8 = 0,2$$

$$Rf_2 = 2,2/8 = 0,27$$

$$Rf_3 = 2,6/8 = 0,32$$

$$Rf_4 = 5,8/8 = 0,72$$

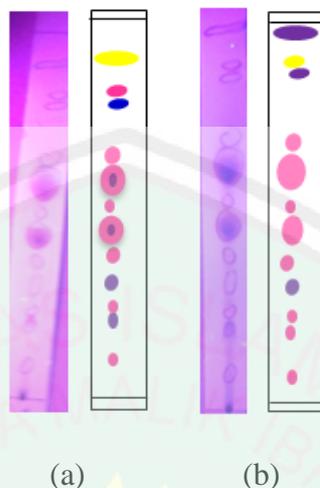
$$Rf_5 = 6,3/8 = 0,78$$

$$Rf_6 = 6,8/8 = 0,85$$

$$Rf_7 = 7,3/8 = 0,91$$

$$Rf_8 = 7,6/8 = 0,95$$

d. Eluen *n*-heksana:aseton (7:3)



Tabel 9.4 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid fraksi etil asetat *S. vulgare* dengan eluen *n*-heksana:aseton (7:3)

No	Rf (cm)	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard (a)	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard (b)	
1	0,07	Merah muda	Merah muda	-
2	0,18	Ungu	Merah muda	-
3	0,22	Merah muda	Merah muda	-
4	0,3	Ungu	Ungu	Steroid
5	0,36	Merah muda	Merah muda	-
6	0,43	Merah muda tengah ungu	Merah muda	-
7	0,48	Merah muda	Merah muda	-
8	0,57	Merah muda tengah ungu	Merah muda	-
9	0,65	Merah muda	Merah muda	-
10	0,8	Biru	Ungu	Steroid
11	0,83	Merah muda	Kuning	-
12	0,92	Kuning	Ungu	Steroid

$$\text{Perhitungan Rf} = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$$

$$\text{Rf}_1 = 0,6/8 = 0,07$$

$$\text{Rf}_2 = 1,5/8 = 0,18$$

$$\text{Rf}_3 = 1,8/8 = 0,22$$

$$\text{Rf}_4 = 2,4/8 = 0,3$$

$$\text{Rf}_5 = 2,9/8 = 0,36$$

$$\text{Rf}_6 = 3,5/8 = 0,43$$

$$\text{Rf}_7 = 3,9/8 = 0,48$$

$$\text{Rf}_8 = 4,6/8 = 0,57$$

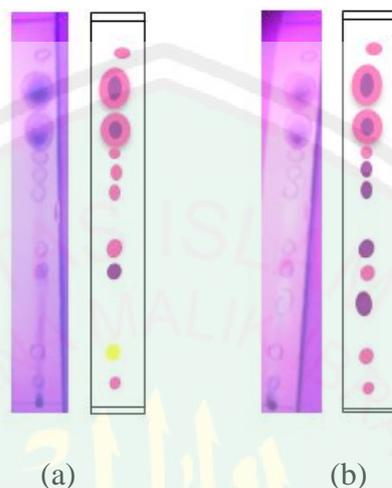
$$\text{Rf}_9 = 5,2/8 = 0,65$$

$$Rf_{10} = 6,4/8 = 0,8$$

$$Rf_{11} = 6,7/8 = 0,83$$

$$Rf_{12} = 7,4/8 = 0,92$$

**e. Eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2)**



Tabel 9.5 Hasil pemisahan golongan senyawa steroid fraksi etil asetat *S. vulgare* dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2)

No	Rf (cm)	Warna noda di bawah sinar UV pada $\lambda$ 366 nm		Dugaan Senyawa
		Sebelum disemprot reagen Liebermann-Buchard (a)	Setelah disemprot reagen Liebermann-Buchard (b)	
1	0,05	Merah muda	Merah muda	-
2	0,11	Kuning	Merah muda	-
3	0,25	-	Ungu	Steroid
4	0,32	Ungu	Merah muda	-
5	0,38	Merah muda	Ungu	Steroid
6	0,53	Merah muda	Ungu	Steroid
7	0,58	Merah muda	Ungu	Steroid
8	0,62	Merah muda	Merah muda	-
9	0,68	Merah muda tengah ungu	Merah muda tengah ungu	Steroid
10	0,81	Merah muda tengah ungu	Merah muda tengah ungu	Steroid
11	0,91	Merah muda	Merah muda	-

$$\text{Perhitungan } Rf = \frac{\text{Jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$$

$$Rf_1 = 0,4/8 = 0,05$$

$$Rf_2 = 0,9/8 = 0,11$$

$$Rf_3 = 2/8 = 0,25$$

$$Rf_4 = 2,6/8 = 0,32$$

$$Rf_5 = 3,1/8 = 0,38$$

$$Rf_6 = 4,3/8 = 0,53$$

$$Rf_7 = 4,7/8 = 0,58$$

$$Rf_8 = 5/8 = 0,62$$

$$Rf_9 = 5,5/8 = 0,68$$

$$Rf_{10} = 6,5/8 = 0,81$$

$$Rf_{11} = 7,3/8 = 0,91$$



## Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian

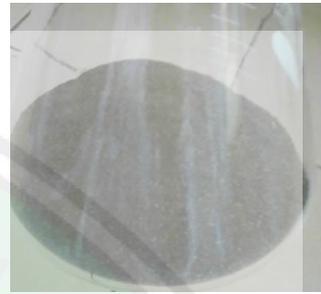
### 1. Preparasi sampel



a. Alga basah



b. Alga kering



c. Alga halus ukuran 60-100 mesh

### 2. Analisis kadar air dan kadar garam



a. Sampel basah



b. Sampel kering



c. Uji kadar garam

### 3. Ekstraksi maserasi



a. Ekstraksi maserasi



b. Penyaringan

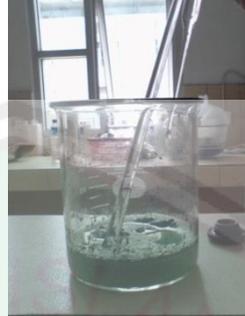


c. Penuapan pelarut dengan *Rotary evaporator vacuum*

#### 4. Hidrolisis dan partisi



a. Hidrolisis dengan HCl



b. Penetralan dengan  $\text{NaHCO}_3$



a. Partisi etil asetat



b. Partisi kloroform



c. Partisi petroleum eter

#### 5. Uji gula reduksi



a. Sampel dipanaskan dalam air mendidih



b. Sampel uji gula reduksi



c. Uji gula reduksi dengan Spektrofotometer

## 6. Uji Antibakteri



a. Media Nutrien Agar



b. Media Nutrien Broth



a. Peremajaan *E. coli*



b. Peremajaan *S. aureus*

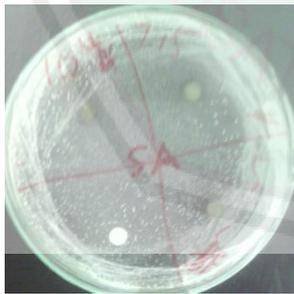


c. Inokulum *E. coli*

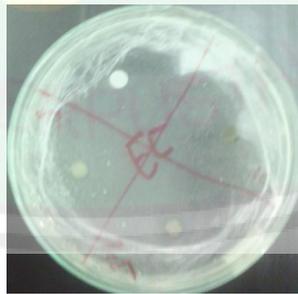


d. Inokulum *S. aureus*

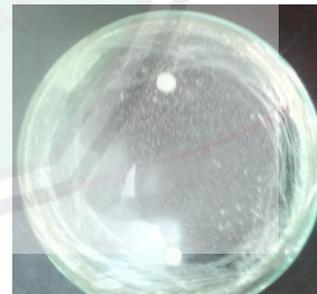
## 7. Uji Aktivitas antibakteri



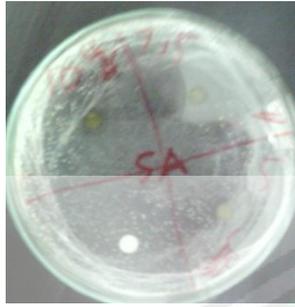
a. Fraksi etil asetat terhadap bakteri *S. aureus*



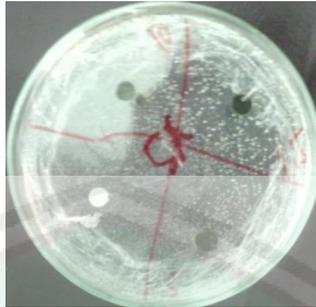
b. Fraksi etil asetat terhadap bakteri *E. coli*



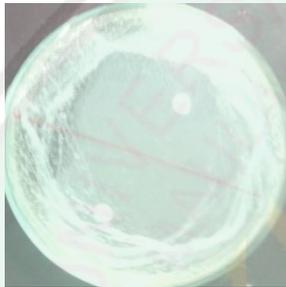
c. Kontrol pelarut etil asetat



a. Fraksi metanol terhadap bakteri *S. aureus*



b. Fraksi petroleum eter terhadap bakteri *S. aureus*

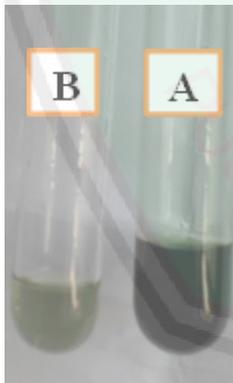


c. Kontrol pelarut metanol

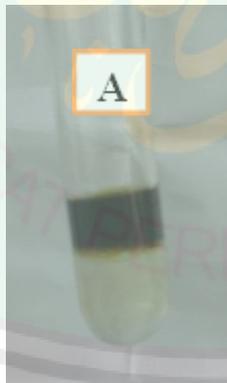


d. Kontrol pelarut petroleum eter

### 8. Uji fitokimia



a. Steroid (+)



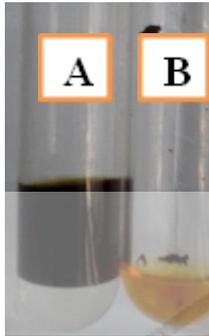
b. Tanin gelatin (-)



c. Tanin  $\text{FeCl}_3$  (-)



d. Saponin (-)



e. Alkaloid pereaksi Dragendrof (-)



f. Alkaloid pereaksi Meyer (-)



g. Flavonoid (-)

Keterangan :

**A** Hasil uji fitokimia larutan ekstrak fraksi etil asetat

**B** Hasil uji fitokimia ekstrak pekat fraksi etil asetat

### 9. Pemisahan senyawa dengan KLT



a. Noda tampak



b. Warna noda UV<sub>336</sub> tanpa pereaksi L-B



c. Warna noda UV<sub>336</sub> dengan pereaksi L-B



d. Diskripsi gambar d

