

**EFEKTIVITAS EKSTRAK RUMPUT LAUT
Sargassum polycystum SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio* spp.**

SKRIPSI

NURUL RAHMA



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
DEPARTEMEN PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK RUMPUT LAUT *Sargassum polycystum* SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Vibrio* spp.**

**NURUL RAHMA
L221 16 502**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada pada
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
DEPARTEMEN PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Efektivitas Ekstrak Rumput Laut *Sargassum polycystum*
Sebagai Antibakteri *Vibrio* spp.
Nama Mahasiswa : Nurul Rahma
Nomor Pokok : L221 16 502
Program Studi : Budidaya Perairan

Skripsi telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing Utama

Dr. rer. nat. Ermi N Zainuddin, DES
NIP. 196106181988032001

Pembimbing Anggota

Dr. Ir. Sriwulan, MP.
NIP. 19660630 199103 2 002

Mengetahui



Dekan
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan

Dr. Ir. S. Aisah Farhum, M.Si
NIP. 19690805 199303 2 002

Ketua Program Studi
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan

Dr. Ir. Sriwulan, MP.
NIP. 19660630 199103 2 002

Tanggal Lulus : 26 November 2020

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Rahma

NIM : L221 16 502

Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan bahwa Skripsi dengan judul: "**Efektivitas Ekstrak Rumput Laut *Sargassum polycystum* Sebagai Antibakteri *Vibrio* spp.**"

Ini adalah karya penelitian saya sendiri dan bebas plagiat, serta tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali secara tertulis digunakan sebagai acuan dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber acuan serta daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam karya ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan (Permendiknas No. 17, tahun 2007).

Makassar, 26 November 2020



Nurul Rahma

L221 16 502

PERNYATAAN AUTHORSHIP

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Rahma

NIM : L221 16 502

Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan bahwa publikasi sebagai atau keseluruhan ini Skripsi/Tesis/Disertasi pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin menyertakan tim pembimbing sebagai author dan Universitas Hasanuddin sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya dua semester (satu tahun sejak pengesahan Skripsi) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan Skripsi ini, maka pembimbing sebagai salah seorang dari penulis berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian, sepanjang nama mahasiswa tetap diikuti.

Makassar, 26 November 2020

Mengetahui,
Ketua Prodi



Dr. Ir. Sriwulan, MP
NIP. 196606301991032002

Penulis



Nurul Rahma
L221 16 502

ABSTRAK

Nurul Rahma. L221 16 502. Efektivitas Ekstrak Rumput Laut *Sargassum polycystum* Sebagai Antibakteri *Vibrio* spp. dibimbing oleh **Elmi N Zainuddin** sebagai Pembimbing Utama dan **Sriwulan** sebagai Pembimbing Anggota.

Sampai saat ini, upaya untuk mengatasi serangan bakteri *Vibrio* spp. dilakukan dengan pemberian antibiotik komersil. Namun hasilnya sering memberi dampak negatif, karena menimbulkan residu pada organisme budidaya dan lingkungan budidaya, serta resistensi bakteri terhadap antibiotik sintetik atau komersil. Salah satu solusi untuk mengatasi masalah ini adalah pemberian antibiotik alami dari rumput laut coklat *Sargassum polycystum* yang mengandung senyawa antibakteri. Penelitian ini bertujuan menganalisis efektivitas ekstrak *Sargassum polycystum* sebagai antibakteri terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, dan *Vibrio parahaemolyticus*. Ekstraksi *Sargassum polycystum* dilakukan dengan metode maserasi kinetik secara berturut-turut dimulai dengan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol. Untuk pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Vibrio* spp. dan penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan dengan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap ketiga jenis bakteri patogen *Vibrio* spp. ($p < 0,05$). Hasil uji Tuckey memperlihatkan aktivitas tertinggi diperlihatkan oleh ekstrak kloroform terhadap ketiga bakteri patogen uji, yaitu terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dengan diameter zona hambat 11,00 mm, *Vibrio alginolyticus* 10,02 mm dan *Vibrio parahaemolyticus* 9,33 mm. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak kloroform terhadap *Vibrio harveyi* adalah $< 15,625$ ppm. Hasil rendemen tertinggi terdapat pada ekstrak metanol 7,67% dan terendah pada ekstrak etil asetat 0,18%. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform dari *Sargassum polycystum* berpotensi sebagai antibakteri alami terhadap bakteri patogen *Vibrio* spp.

Kata kunci: *Sargassum polycystum*, Ekstrak kloroform, Antibakteri alami, *Vibrio* spp.

ABSTRACT

Nurul Rahma. L221 16 502. Effectiveness of Sea grass extract *Sargassum polycystum* as antibacterial *Vibrio* spp. Which was guided **Elmi N Zainuddin** as main supervisor and **Sriwulan** as co-supervisor.

Until now, efforts to overcome the attack of the *Vibrio* spp. done by administering commercial antibiotics. However, the results often have a negative impact, because they cause residues in cultivated organisms and the culture environment, as well as bacterial resistance to synthetic or commercial antibiotics. One solution to this problem is giving natural antibiotics from brown seaweed *Sargassum polycystum* which contains antibacterial compounds. This study aims to analyze the effectiveness of *Sargassum polycystum* extract as an antibacterial against *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, and *Vibrio parahaemolyticus* bacteria. The extraction of *Sargassum polycystum* was carried out by using the kinetic maceration method successively starting with the solvent n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and methanol. For testing the antibacterial activity against the pathogenic bacteria *Vibrio* spp. and the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) was carried out by the agar diffusion method. The results showed that the *Sargassum polycystum* extract showed a significant effect on the three types of pathogenic bacteria *Vibrio* spp. ($p < 0.05$). The Tuckey test results showed the highest activity was shown by chloroform extract against the three tested pathogenic bacteria, namely *Vibrio harveyi* with an inhibition zone diameter of 11.00 mm, *Vibrio alginolyticus* 10.02 mm and *Vibrio parahaemolyticus* 9.33 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) value of chloroform extract against *Vibrio harveyi* was < 15.625 ppm. The highest yield was found in methanol extract of 7.67% and the lowest in ethyl acetate extract 0.18%. From this research it can be concluded that the chloroform extract from *Sargassum polycystum* has the potential as a natural antibacterial against the pathogenic bacteria *Vibrio* spp.

Keywords: *Sargassum polycystum*, Chloroform extract, Natural antibacterial, *Vibrio* spp.

KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji bagi Allah SWT atas Rahmat dan Hidayah-Nya yang senantiasa tercurahkan kepada penulis sehingga dapat merampungkan penulisan Skripsi yang berjudul “**Efektivitas Ekstrak Rumput Laut *Sargassum polycystum* Sebagai Antibakteri *Vibrio spp***” Shalawat dan salam kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah menjadi panutan serta telah membawa umat dari lembah kehancuran menuju alam yang terang benderang.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan berbagai pihak yang selalu memberikan dukungan serta semangat yang tinggi kepada penulis selama melakukan penelitian. Maka dari itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung dan tidak lupa saya ucapkan kepada :

1. Orang tua saya Ramli dan Nurhayati (Alm.) dan kakak Nur Indah Sari serta keluarga yang selalu mendukung, mendoakan dan memberikan perhatian selama penelitian berlangsung.
2. Bapak Dr.rer.nat. Elmi N Zainuddin, DES selaku pembimbing utama dan sekaligus pembimbing akademik yang banyak meluangkan waktu, tenaga dan memberikan arahan dalam membimbing mulai dari awal masuk perkuliahan sampai sekarang dan Ibu Dr. Ir. Sriwulan, MP. Selaku pembimbing anggota yang dengan tulus telah membimbing, memberikan motivasi, saran dan petunjuk mulai dari persiapan, pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi.
3. Ibu Dr. Ir. St. Aisjah Farhum, M.Si selaku Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Wakil Dekan I,II dan III dan seluruh Bapak Ibu Dosen yang telah melimpahkan ilmunya kepada penulis, dan Bapak Ibu Staf Pegawai Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.
4. Bapak Dr. Ir. Gunarto Latama, M.Sc. selaku ketua Departemen Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin dan beserta seluruh staffnya,
5. Ibu Dr. Ir. Sriwulan, MP. selaku ketua Program Studi Budidaya Perairan, Departemen Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang bermanfaat.
7. Ibu Dr. Asmi Citra Malina, S.Pi, M.Agr. Selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang bermanfaat.

8. Ibu Huyyirna, S.P, M.P selaku penanggung jawab Laboratorium Mikrobiologi laut atas segala bantuannya dan bimbingan di dalam laboratorium demi kelancaran penelitian ini.
9. Seluruh staf akademik Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin yang telah membantu proses administrasi selama penyusunan skripsi.
10. Teman seperjuangan selama penelitian Rezky Dwi Amalyah yang selalu mendukung, memotivasi, memberikan kontribusi tenaga dan pikiran dari awal penelitian hingga penyusunan skripsi.
11. Teman seperjuangan Rika Rahayu, Lestari Permatasari, Muhlisa Darwis, Fitriani, Asmawati Hajar, Gabriella Agustine, Imam Wahyudi Duni yang senantiasa membantu, memberi motivasi dan menemani penulis dalam penelitian hingga penyusunan skripsi.
12. Teman Shopee team: Yustika Diro Damis, Latifa Baharuddin, Muh. Fatratullah Muchsin, Sitti Fatimah Azzahra, Emilia Defista yang senantiasa membantu, memberi motivasi dalam penelitian hingga penyusunan skripsi.
13. Sahabat seperjuangan Rifkatul Mukarramah, Irma Wahyuni, dan Indriani yang selalu mensupport penulis dalam penyusunan skripsi.
14. Teman-teman seperjuangan program studi Budidaya Perairan Angkatan 2016 yang memberikan banyak dukungan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.
15. Teman- teman KMP BDP KEMAPI FIKP UNHAS, HMJ KEMAPI FIKP UNHAS, yang senantiasa memberikan dukungan selama penulis menyelesaikan studi.

Akhir kata penulis menyampaikan rasa penghargaan dan terima kasih yang tulus kepada semua pihak yang mendukung dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Atas perhatian dan kerja samanya saya ucapkan terima kasih.

Makassar, 26 November 2020



Nurul Rahma

BIODATA PENULIS



Penulis dengan nama lengkap Nurul Rahma. Penulis lahir di Barru pada tanggal 1 Juli 1998. Penulis dilahirkan oleh pasangan Ramli dan Nurhayati (Almh.) sebagai anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis mengawali pendidikan formal di SD INP Lawallu dan lulus pada tahun 2010, kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Soppeng Riaja lulus pada tahun 2013, dan melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 soppeng Riaja lulus pada tahun 2016. Pada tahun 2016 penulis diterima di Universitas Hasanuddin Makassar melalui Jalur Non Subsidi (Mandiri) dan sejak itu telah terdaftar sebagai mahasiswa di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Departemen Perikanan, Program Studi Budidaya Perairan. Selama kuliah di Universitas Hasanuddin, penulis aktif berorganisasi internal universitas yaitu sebagai Badan Pengurus Harian KMP BDP KEMAPI FIKP UNHAS 2018-2019. Penulis pernah bertugas sebagai koordinator asisten bioteknologi, asisten ilmu tanah dan asisten mikrobiologi di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan dan Kegunaan	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Penyakit Vibriosis Pada Organisme Budidaya	3
B. Antibakteri	4
C. Bakteri Patogen	4
1. <i>Vibrio harveyi</i>	5
2. <i>Vibrio alginolitycus</i>	6
3. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6
D. Potensi Rumput Laut <i>Sargassum polycystum</i>	7
E. Ekstraksi Metode Maserasi.....	9
F. Pelarut.....	10
1. N-heksan.....	10
2. Kloroform.....	11
3. Etil asetat	11
4. Metanol	11
G. Uji Antimikroba	12
III. METODE PENELITIAN	14
A. Waktu dan Tempat	14
B. Alat dan Bahan	14
C. Prosedur Penelitian	15
1. Persiapan Sampel.....	15
2. Proses Ekstraksi <i>Sargassum polycystum</i> (Zainuddin, 2019)	16
D. Uji Antibakteri Dengan Metode Difusi Agar (Zainuddin, <i>et al.</i> , 2019).....	17
E. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Zainuddin, 2006)	19
F. Analisis Data.....	19

IV. HASIL	20
A. Hasil Rendemen Ekstraksi Kasar <i>Sargassum polycystum</i>	20
B. Aktivitas antibakteri ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	20
1. <i>Vibrio harveyi</i>	21
2. <i>Vibrio alginolyticus</i>	22
3. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	23
C. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Aktif <i>Sargassum polycystum</i>	24
V. PEMBAHASAN	25
A. Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	25
B. Aktivitas Antibakteri <i>Sargassum polycystum</i>	26
C. Konsentrasi Hambat Minimum	29
VI. SIMPULAN DAN SARAN	30
A. Simpulan	30
B. Saran.....	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Morfologi Rumput Laut <i>Sargassum polycystum</i>	8
2. Isolat bakteri <i>Vibrio harveyi</i> , pada media TSA	Error! Bookmark not defined.
3. Skema ekstraksi rumput laut coklat <i>Sargassum polycystum</i> Secara berturut-turut dengan pelarut berbeda.....	17
4. Skema kerja untuk pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar.....	18
5. Aktivitas antibakteri dari ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> terhadap strain bakteri patogen <i>Vibrio harveyi</i> FIKP	22
6. Aktivitas antibakteri dari ekstrak <i>Sargassum</i> terhadap strain bakteri patogen <i>Vibrio alginolyticus</i>	22
7. Aktivitas antibakteri dari ekstrak <i>Sargassum</i> terhadap strain bakteri patogen <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	23
8. Konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak kloroform <i>Sargassum polycystum</i> terhadap pertumbuhan bakteri patogen <i>Vibrio harveyi</i> FIKP.....	24

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Indeks polaritas larutan kimia	12
2. Nama dan fungsi alat yang digunakan pada penelitian.....	14
3. Bahan dan fungsi bahan yang digunakan pada penelitian.....	15
4. Tingkat aktivitas antimikroba berdasarkan diameter zona hambat.....	19
5. Rendemen ekstrak kasar dari 50 g biomas <i>Sargassum polycystum</i>	20
6. Rata-rata diameter zona hambat dari beberapa ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> Terhadap bakteri <i>Vibrio harveyi</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> , dan <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .	21
7. Tingkat aktivitas antimikroba berdasarkan diameter zona hambat.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data hasil ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> menggunakan berbagai larutan dengan metode maserasi	42
2. Perhitungan rendemen ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	42
3. Data hasil pengukuran uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar <i>Sargassum polycystum</i> terhadap bakteri <i>Vibrio harveyi</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> dan <i>Vobrio parahaemolyticus</i> ..	43
4. Hasil uji Oneway Anova dan uji lanjut Tuckey daya hambat antibakteri ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> terhadap bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	44
5. Hasil uji Oneway Anova dan uji lanjut Tuckey daya hambat antibakteri ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> terhadap bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i>	45
6. Hasil uji Oneway Anova dan Uji lanjut Tuckey daya hambat antibakteri ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> terhadap bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	46
7. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada berbagai konsentrasi ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> terhadap bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	48
8. Dokumentasi hasil zona hambat pada ekstrak sargassum <i>polycystum</i> terhadap bakteri <i>Vibrio harveyi</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	49
9. Dokumentasi kegiatan	50

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Vibrio sp merupakan bakteri patogen penyebab penyakit vibriosis yang menyerang ikan dan *Crustacea* (Ode, 2012). Jenis bakteri yang banyak berasosiasi dengan organisme budidaya perairan khususnya adalah dari genus *Vibrio*. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri genus ini dikenal dengan vibriosis. Kegagalan panen akibat serangan bakteri *Vibrio* spp dapat mengakibatkan kematian dalam waktu yang cepat dan dalam jumlah yang besar (Fajriani *et al.*, 2018). Serangan bakteri patogen *Vibrio* spp. dilaporkan telah menyerang hampir seluruh organisme budidaya dengan tingkat kematian 100% pada stadia larva (Apriliani *et al.*, 2016). Bakteri *Vibrio* spp. pernah dilaporkan menyerang ikan lele sangkuriang (Meylani dan Putra, 2018), udang vaname (Kharisma dan Manan, 2019), Ikan kakap putih (Zaenuddin *et al.*, 2019), ikan nila dan ikan belanak (Abdellrazaq dan Khaliel, 2014), ikan kerapu macan (Hastari *et al.*, 2014). Jenis bakteri patogen penyebab penyakit Vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* adalah dari jenis *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio damsela*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* dan *Vibrio penaeicida* (Rahmanto *et al.*, 2014).

Untuk mengatasi serangan bakteri patogen *Vibrio* spp., upaya yang sering dilakukan adalah dengan pemberian antibiotik. Namun penggunaannya yang berlebihan pada organisme budidaya dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap obat-obatan antibiotik komersil, serta membahayakan kesehatan manusia akibat terakumulasinya antibiotik dalam tubuh organisme budidaya (Zainuddin *et al.*, 2020). Alternatif terkini yang dapat ditawarkan untuk mengendalikan bakteri patogen *Vibrio* spp. adalah dengan antibiotik alami yang berasal dari alam yaitu rumput laut.

Rumput laut adalah tanaman tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan yang nyata antara fungsi akar, batang dan daun, semuanya dikenal dengan nama tallus (Pontoh *et al.*, 2019). Rumput laut terbagi menjadi tiga divisi yaitu, Chlorophyta (rumput laut hijau), Phaeophyta (rumput laut coklat) dan Rhodophyta (rumput laut merah). Jenis rumput laut yang banyak terdapat di perairan Indonesia adalah *Gracilaria*, *Gelidium*, *Euclidean*, *Hypnea*, *Sargassum* dan *Turbinaria*. Rumput laut mengandung senyawa yang bersifat antivirus, antijamur, antibakteri dan antifouling (Zainuddin dan Malina 2009; Wulandari *et al.*, 2019; Zainuddin *et al.*, 2019). Salah satu jenis rumput laut yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu rumput laut *Sargassum duplicatum* (Pakidi *et al.*, 2018). *Sargassum polycystum* kaya akan bahan bioaktif, seperti: alginat, fucoidan, fucoxantin, dan phlorotannin (Sedjati *et al.*, 2017).

Sargassum juga mengandung senyawa-senyawa aktif seperti steroid, alkaloid, fenol, triterpenoid, flavonoid, saponin dan tanin, yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, dan anti jamur (Calvyn *et al.*, 2016; Pangestuti *et al.*, 2017). Berdasarkan potensi tersebut maka dianggap perlu untuk melakukan penelitian mengenai ekstrak *Sargassum polycystum* sebagai antibakteri terhadap *Vibrio* spp.

B. Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas zona hambat ekstrak *Sargassum polycystum* sebagai antibakteri terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, dan *Vibrio parahaemolyticus*, jumlah rendemen ekstrak, serta Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak aktif *Sargassum polycystum* .

Adapun kegunaan penelitian ini adalah merupakan informasi pemanfaatan *Sargassum polycystum* sebagai antibiotik alami pengganti antibiotik sintetik untuk pengobatan dengan metode perendaman dan injeksi pada udang yang terserang penyakit vibriosis.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penyakit Vibriosis Pada Organisme Budidaya

Vibriosis adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp. Bakteri ini termasuk dalam famili Vibrionaceae yang berbentuk batang dan dilengkapi flagel sebagai alat gerak. *Vibrio* termasuk bakteri Gram-negatif yang dapat melisis hemoglobin dan mempengaruhi proses metabolisme sel. Kadar hemoglobin yang rendah dapat menjadi salah satu indikasi pada ikan atas terjadinya infeksi bakteri (Dahlia *et al.*, 2017). Bakteri *Vibrio* spp. tergolong bakteri yang paling ganas menyerang ikan-ikan budidaya (Ghufran *et al.*, 2010) dan merupakan salah satu bakteri yang banyak berasosiasi dengan organisme budidaya yaitu genus *Vibrio* (Ode, 2012). Kamiso (1996), melaporkan bahwa penyebab vibriosis adalah bakteri *Vibrio* sp. yang saat ini telah dikenal sekitar 20 jenis yang menyerang berbagai komoditas perikanan seperti ikan, moluska, *crustacea*, termasuk kepiting, lobster dan berbagai jenis udang.

Saat ini Vibriosis merupakan penyakit yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius di seluruh usaha budidaya ikan laut dan air payau di dunia penularannya dapat melalui air atau kontak langsung antar ikan dan menyebar sangat cepat pada ikan-ikan yang dipelihara dengan kepadatan tinggi (Sunyoto, 1994). Kehadiran vibriosis sangat merugikan usaha budidaya ikan laut dan ikan air tawar karena dalam waktu singkat dapat menimbulkan kematian yang tinggi (Ode, 2012). Sedangkan untuk budidaya udang, baik di pembenihan maupun pembesaran dapat menyebabkan kematian hingga mencapai 100% (Feliatra *et al.*, 2014) dan penyakit ini yang paling banyak menimbulkan kerugian ekonomi (Kusumaningrum *et al.*, 2017).

Keganasan bakteri genus *Vibrio* berkaitan dengan produksi siderofor yang berfungsi mengikat zat besi dari darah inang (Dahlia *et al.*, 2017). Bakteri *Vibrio* terdapat secara alami dalam tubuh hewan laut, tepatnya di hepatopankreas (Akerina, 2018). Bakteri ini bersifat patogen dan menginfeksi serta menyebabkan penyakit pada saat kondisi ikan lemah dan faktor lingkungan yang ekstrim (Felix *et al.*, 2011).

Penyakit Vibriosis umumnya menyerang bagian kulit udang dan biasanya disebabkan oleh spesies *Vibrio* yang berbeda-beda. Larva udang yang terserang *Vibrio harveyi* terlihat bercahaya pada kondisi gelap (Fitiri *et al.*, 2018). *Vibrio alginolyticus* dapat menyebabkan infeksi kulit (Akerina, 2018). Penularan penyakit Vibriosis ini tergolong cepat sehingga dapat meningkatkan nilai mortalitas pada suatu tambak (Sari *et al.*, 2015). Serangan bakteri patogen *Vibrio* spp dilaporkan telah menyerang hampir seluruh organisme budidaya kematian hingga 100% pada stadia larva (Apriliani *et al.*,

2016). Bakteri *Vibrio* spp. pernah dilaporkan menyerang ikan lele sangkuriang (Meylani dan Putra, 2018), udang vaname (Kharisma dan Manan, 2019), Ikan kakap putih (Zaenuddin *et al.*, 2019), Ikan nila yang terserang *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* (Nurhidayah dan Kadriah, 2014), Ikan belanak (Abdellrazaq dan Khaliel, 2014), dan ikan kerapu macan (Hastari *et al.*, 2014).

B. Antibakteri

Antibakteri adalah metabolit yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme untuk menghambat bakteri (Pangestuti *et al.*, 2017). Antibakteri biasanya terdapat dalam suatu organisme sebagai metabolit sekunder. Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan dengan cara merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim (Septiani *et al.*, 2017). Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu: bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan antibakteri bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri (Siregar *et al.*, 2012).

Berdasarkan daya menghambat atau membunuhnya, antibakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit (*narrow spectrum*) dan berspektrum luas (*broad spectrum*). Antibakteri yang berspektrum sempit yaitu antibakteri yang hanya dapat bekerja terhadap bakteri tertentu saja, misalnya hanya terhadap bakteri Gram-positif saja atau Gram-negatif saja. Antibakteri yang berspektrum luas dapat bekerja baik pada bakteri Gram-negatif maupun bakteri Gram-positif (Talaro, 2008). Menurut Chytanya *et al.* (1999), Sifat resisten terjadi karena ada 5 faktor yaitu: bakteri itu tidak memiliki dinding sel sehingga menjadi resisten terhadap antibiotik yang bekerja dengan cara merusak dinding sel, bakteri itu tidak permeabel terhadap beberapa jenis antibiotik, bakteri itu mempunyai kemampuan untuk menginaktifkan komponen-komponen yang ada didalam antibiotik, bakteri itu memiliki sistem metabolisme yang dapat memblokir antibiotik tertentu, bakteri itu memiliki kemampuan untuk memompa antibiotik tertentu keluar dari dinding sel.

C. Bakteri Patogen

Bakteri patogen merupakan bakteri yang umumnya menyebabkan kegagalan pada budidaya ikan terutama ikan laut. Memiliki sel berbentuk batang pendek dan bersifat Gram-negatif. Penyakit yang ditimbulkan umumnya menunjukkan gejala septikemia dan luka (Rahmaningsih, 2019). Selain berbentuk batang ada juga yang berbentuk koma seperti pada *Vibrio*. Bakteri *Vibrio* merupakan bakteri akuatik yang

bersifat patogen oportunistik yang ditemukan dan dominan di lingkungan air payau dan estuaria seperti sungai, muara sungai, kolam, dan laut (Ihsan dan Retnaningrum, 2017).

Bakteri ini tumbuh optimal pada air payau dan laut dengan salinitas antara 20-40 ppt (Feliatra, 2011). Bakteri *Vibrio* yang hidup di air laut dan di air tawar, berasosiasi dengan hewan laut dan hewan air tawar. Sebagian besar dari bakteri jenis ini adalah bersifat patogen dan mampu menghasilkan enzim proteolitik, kitinolitik, dan halofilik (Ihsan dan Retnaningrum, 2017). Menurut Bintari *et al.* (2016), jenis *Vibrio* yang sering dilaporkan menyebabkan Vibriosis diantaranya adalah *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus*, dan *Vibrio parahaemolyticus*. Secara umum ketiga jenis bakteri tersebut memiliki ciri-ciri biologis dan karakteristik sebagai berikut:

1. *Vibrio harveyi*

Penyakit yang diakibatkan *Vibrio harveyi* bersifat sangat akut dan ganas karena dapat mematikan yang terserang dalam waktu 1 sampai 3 hari (Feliatra *et al.*, 2014). Karakteristik lain dari bakteri *Vibrio harveyi* adalah bersifat patogen oportunistik, dimana jika kondisi lingkungan dan inangnya memburuk akan merubah sifatnya dari saprofitik menjadi patogenik (Devi *et al.*, 2018). Bakteri *Vibrio harveyi* ditemukan hampir di semua habitat, seperti air tawar, muara, air laut dan tanah. Bakteri ini agen penyebab penyakit pada manusia, ikan dan krustasea (Asaad *et al.*, 2019). Batas aman keberadaan populasi bakteri ini di dalam bak pemeliharaan adalah $8,35 \times 10^4$ koloni/ml. Bakteri ini merupakan penyebab utama terhadap tingginya tingkat kematian pada larva krustasea (Hatmanti, 2003).

Bakteri ini bersifat patogen primer dan oportunistik pada hewan laut seperti koral Gorgonia, tiram, udang, lobster, ikan snook, barramundi, turbot, bandeng dan kuda laut (Owens *et al.*, 2006). Penyakit yang disebabkan *Vibrio harveyi* ditandai dengan adanya lesi mata, gastro-enteritis, vaskulitis dan vibriosis berpendar (Kusumaningrum *et al.*, 2017). Mortalitas akibat serangan bakteri ini mencapai 80% dalam beberapa hari (Fitri *et al.*, 2018). Infeksi *Vibrio harveyi* awalnya masuk melalui mulut, membentuk plak, menyebar ke alat gerak kemudian menyebabkan kehilangan fungsi dan degradasi pada alat gerak. Infeksi *Vibrio harveyi* dapat terjadi pada semua fase (telur sampai indukan) dan banyak menyebabkan kasus kematian organisme budidaya sampai 100% (Kusumanigrum *et al.*, 2017). Bakteri *Vibrio harveyi* pernah dilaporkan menyerang ikan nila (Nurhidayah dan Kadriah, 2014), lele sangkuriang (Meylani dan Putra, 2019), lele dumbo (Indiriani *et al.*, 2014), kerapu (Hatmanti *et al.*, 2009), udang windu (Feliatra *et al.*, 2014), udang vaname (Sumini dan Kusdarwati, 2019) serta pada benih ika kerapu cantang (Dahlia *et al.*, 2017).

2. *Vibrio alginolyticus*

Vibrio alginolyticus termasuk bakteri Gram-negatif, berbentuk batang pendek, dapat menfermentasi glukosa, pada lisin *decarboxilase* bersifat positif, dan motility positif. Dapat menfermentasi sukrosa, dan tidak menfermentasi laktosa. Menurut Dahlia *et al.*, (2017) bentuk morfologi *Vibrio alginolyticus* sel *bacil* (batang), warna koloni kuning kecoklatan, menyebar, bagian tepi berlekuk serta elevasi flat (ketinggian sama medium), dan uji biokimiawi bersifat oksidase dan katalase positif, bersifat fermentatif, motil, indol positif, ornitin positif, gelatin positif, uji gula glukosa, maltosa, sukrosa, manitol positif sedangkan arbinosa inositol negatif. Tumbuh baik pada konsentrasi NaCl 1-10% dan dapat menyebabkan infeksi kulit dan infeksi telinga (Akerina, 2018).

Keberadaan *Vibrio alginolyticus* dalam tubuh ikan tersebut tidak bersifat patogen, karena bakteri ini tergolong oportunistik, dimana akan menjadi patogen apabila kondisi ikan tidak optimal misalnya stres karena kualitas air dan pakan tidak bagus. Interaksi yang tidak serasi ini menyebabkan mekanisme pertahanan diri yang dimiliki menjadi lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit. Dilaporkan Hastari *et al.* (2014), ikan kerapu yang terserang *Vibrio alginolyticus* terjadi perubahan tingkah laku seperti nafsu makan yang menurun dan pergerakan ikan lamban diduga karena bakteri tersebut memproduksi toksin yang terlalu berlebih. Bakteri-bakteri penghasil toksin tersebut antara lain adalah *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* saat bakteri menginfeksi ikan. Bakteri *Vibrio alginolyticus* sangat umum ditemukan pada perairan payau dan laut. Bakteri ini ditemukan di udang pada tambak tradisional Maros (Susianingsih dan Atmomarsono, 2014) juga pada ikan kerapu yang sakit (Devi *et al.*, 2018).

3. *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus adalah Gram-negatif, hidup pada daerah yang bersalinitas tinggi, berbentuk batang pembentuk non-spora, Tumbuh pada medium cair, motilitas ditunjukkan oleh flagellum polar tunggal (Datu, 2017). Berdasarkan Morfologi koloni isolat bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: pada media tumbuh bulat agak keruh, tepi halus, reaksi Gram-negatif, sel bakteri berbentuk koma, motilitas positif. Pada pengujian biokimia isolat bakteri dengan ciri-ciri sebagai berikut: oksidase positif, katalase negatif, produksi H₂S negatif, dan produksi indol positif, penggunaan karbon dari citrat negatif, proteolitik negatif dan uji TSIA bersifat A/A artinya bahwa bakteri mempunyai kemampuan untuk memfermentase glukosa, laktosa dan sukrosa (Luturmas, 2013). *Vibrio parahaemolyticus* terdapat pada daerah beriklim sedang dan beriklim tropis, laut dan

lingkungan perairan lainnya (Patel *et al.*, 2018). Bakteri ini adalah jenis bakteri yang hidupnya di laut, memiliki daya tahan terhadap salinitas cukup tinggi. Oleh sebab itu bakteri patogen ini dapat mencemari pangan hasil laut. Bakteri ini tumbuh pada kadar NaCl optimum 3%, kisaran suhu 5-43°C, pH 4.8-11. Pertumbuhan berlangsung cepat pada kondisi suhu optimum (37°C) dengan waktu generasi hanya 9-10 menit (Oktavianus, 2013)

Vibrio parahaemolyticus menyebabkan kerusakan akut pada organ *hepatopancreas*, menyerang perut udang, dan melepaskan toksin pada industri akuakultur (Sugianto *et al.*, 2017). Ditemukan Marlina (2004), *Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri Gram-negatif dengan dinding sel yang lebih tipis dari gram positif karena mengandung peptidoglikan (5%-10%) dari komposisi dinding sel.

Vibrio parahaemolyticus sering ditemukan pada udang mentah, ikan mentah, serta kerang, ikan dan pangan hasil laut lainnya yang kurang sempurna memasaknya (Widowati, 2008). Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* juga dilaporkan menyerang udang windu (*P. Monodon*), udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Sarjito *et al.*, 2015), Ikan hias *Chrysiptera parasema* (Sugianto *et al.*, 2017).

D. Potensi Rumput Laut *Sargassum polycystum*

Klasifikasi *Sargassum* menurut Tjitrosoepomo (2005) dalam Pakidi dan Hidayat (2017) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Thallophyta
Kelas : Phaeophyceae
Ordo : Fucales
Famili : Sargassaceae
Genus : *Sargassum*
Spesies : *Sargassum polycystum*

Sargassum polycystum merupakan rumput laut coklat tropis dan subtropis yang hidup pada daerah subtidal dan intertidal. Distribusi dan struktur populasi spesies *Sargassum* sp. dipengaruhi oleh suhu air, tingkat pasang surut, gerakan air dan tipe substrat (misalnya bebatuan) (Gazali *et al.*, 2018). *Sargassum* adalah salah satu genus dari kelompok rumput laut coklat yang merupakan genera terbesar dari family Sargassaceae (Lutfiawan *et al.*, 2015). *Sargassum* adalah rumput laut yang tergolong dalam divisi Phaeophyta (alga coklat). Genus ini dapat tumbuh sampai panjang 12 m. Tubuhnya berwarna coklat kuning kehijauan, dengan struktur tubuh terbagi atas sebuah holdfast yang berfungsi sebagai struktur basal, sebuah stipe atau batang semu,

dan sebuah *frond* yang berbentuk seperti daun (Gambar 1). Warna coklat pada alga divisi Phaeophyta muncul akibat dominansi dari pigmen *fucoxanthin*, klorofil a dan c, betakaroten, dan xantofil lainnya (Lutfiawan *et al.*, 2015).



Gambar 1. Morfologi Rumput Laut *Sargassum polycystum*

Alga coklat memiliki kandungan karbohidrat, protein, abu, air, vitamin dan mineral dalam bentuk makro dan mikro elemen yaitu kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg), fosfor (P), iodin (I) dan besi (Fe) (Gazali *et al.*, 2018). *Sargassum* sp mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi terutama protein dan mineral. Ekstrak *Sargassum polycystum* positif mengandung senyawa alkaloid pada ekstrak menggunakan pelarut metanol dan senyawa steroid pada pelarut metanol, etil asetat dan n-heksana (Riyanto *et al.*, 2013). *Sargassum* mengandung senyawa fenol, klorofil a, klorofil c dan karoten yang berfungsi sebagai antioksidan. Dari beberapa hasil penelitian juga didapati bahwa kandungan zat aktif *fucoidan* dalam *Sargassum* sp. memiliki bioaktivitas sebagai antikanker, antiatherosklerosis, antiinflamasi, antikoagulan, dan imunomodulator (Satyarsa, 2019; Zainuddin, 2010). Golongan senyawa steroid/triterpenoid dan tanin yang terdapat pada ekstrak kasar rumput laut diduga aktif sebagai senyawa antibakteri (Siregar *et al.*, 2012).

Senyawa steroid/triterpenoid juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa steroid/triterpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri. Senyawa terpenoid mudah larut dalam lipid sifat inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram-positif dan sel bakteri Gram-negatif (Rosyidah *et al.*, 2010). Tanin memiliki persenyawaan fenol yang memiliki gugus hidroksil di dalamnya maka mekanisme dalam meniadakan bakteri dengan memanfaatkan perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Apabila sel bakteri semakin banyak mengandung lipid maka dibutuhkan konsentrasi yang tinggi untuk membuat

bakteri tersebut lisis. Mekanisme kerja senyawa saponin yaitu dengan cara mengganggu permeabilitas sel yang menyebabkan senyawa intraseluler seperti sitoplasma akan keluar dan mengakibatkan kematian sel. Kandungan senyawa bioaktif yang lain yaitu flavonoid, tannin, dan fenol, dimana mekanisme kerja dari senyawa tersebut berbeda tetapi semua senyawa bioaktif tersebut bersifat sidal. Senyawa bioaktif yang bersifat bakteriosidal yaitu senyawa yang dapat merusak pertahanan dan organ tubuh bakteri yang menyebabkan kerusakan sel dan pada akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri yang diserang (Pengestuti *et al.*, 2017).

Sargassum spp. jenis *S. echinocarpum*, *S. duplicatum* dan *S. polycystum* di perairan Jepara dapat menghambat pertumbuhan bakteri (antibakteri) (Kere *et al.*, 2018). Begitupula pada *Sargassum prismaticum* memiliki aktivitas antibakteri (Zainuddin, 2010; Pangestuti *et al.* 2017). Beberapa jenis *Sargassum* spp memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Salma *et al.*, 2019; Sedjati *et al.*, 2017).

E. Ekstraksi Metode Maserasi

Ekstraksi adalah proses penarikan suatu zat dengan pelarut. Ekstraksi menyangkut distribusi suatu zat terlarut (solut) diantara dua fasa cair yang tidak saling bercampur. Teknik ekstraksi sangat berguna untuk pemisahan secara cepat dan bersih untuk zat organik atau anorganik, baik dilakukan dengan metode analisis makro maupun mikro (Aji *et al.*, 2013). Ekstraksi merupakan juga proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Ekstraksi dengan cara maserasi adalah metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode maserasi bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa aktif pada sampel yang tidak tahan panas (Gazali *et al.*, 2019). Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel pada pelarut organik kemudian ekstrak cair dibebaskan dari pelarutnya dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* (Leksono *et al.*, 2018). Menurut Senja *et al.*, (2014), proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam sambil sesekali pengadukan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40⁰C hingga diperoleh ekstrak kasar. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi adalah jenis pelarut, rasio bahan pelarut, waktu, suhu ukuran partikel dan jumlah pelarut yang digunakan (Prasetyowati dan Tera, 2010).

Meserasi bertingkat adalah proses ekstraksi bertahap dengan menggunakan pelarut berbeda (Susana *et al.*, 2018). Ekstraksi dengan pelarut n-heksan, kloroform, etil asetat dan metanol mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan (Permadi *et al.*, 2012). Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut

dalam pelarut yang sama polaritasnya (Verdiana *et al.*, 2018). Ekstraksi bertingkat akan menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan, sedangkan ekstraksi tidak bertingkat menghasilkan senyawa yang terekstrak merupakan ekstrak total yang mampu terekstraksi dengan pelarut tersebut. Secara selektif, masing-masing pelarut akan memisahkan kelompok kandungan kimia, diawali penyaringan dengan pelarut yang non polar, kemudian dengan pelarut yang kurang polar dan terakhir dengan pelaut polar (Harborne, 1987).

Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014). Prosedur pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya dilakukan dengan cara fraksinasi. Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin *et al.*, 2006). Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir (berat ekstrak yang dihasilkan) dengan berat awal (berat biomassa sel yang digunakan) dikalikan 100% (Sani *et al.*, 2014).

F. Pelarut

Faktor yang mempengaruhi dalam berhasilnya proses ekstraksi adalah mutu dan pelarut yang dipakai. Ada dua pertimbangan utama dalam memilih pelarut yang akan digunakan, yaitu harus memiliki daya larut yang tinggi dan pelarut tersebut tidak berbahaya atau tidak beracun (Somaatmadja, 1981).

Untuk memperoleh ekstrak yang baik dapat dilakukan ekstraksi secara bertingkat dimulai dari pelarut non polar (n-heksana, sikloheksana, toluene), lalu dengan pelarut semipolar (kloroform, diklorometan, dietil eter dan etil asetat) dan polar (metanol, etanol dan air) sehingga diperoleh ekstrak yang mengandung berturut-turut senyawa nonpolar, semipolar dan polar (Houghton dan Raman, 1998). Adapun pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi sebagai berikut :

1. N-heksan

Heksana adalah suatu hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Umumnya berkisar 50% dari berat rantai isomer dan mendidih pada 60 – 70°C. Seluruh isomer heksana dan sering digunakan sebagai pelarut organik yang bersifat inert karena non-polarnya (Utomo, 2016). Rendemen pada pelarut n-heksan yaitu 0,265%, hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa non –polar tidak banyak terdapat pada alga cokelat *Sargassum* sp. (Gazali *et al.*, 2018). Menurut Susana *et al.* (2018),

reaksi positif untuk uji senyawa alkaloid dan steroid pada ekstrak batang kecombrang (*Etilingera elatior*).

2. Kloroform

Kloroform atau triklorometana mempunyai rumus molekul CHCl_3 . Dimana pada tekanan dan suhu normal merupakan cairan bening dan berbau karakteristik. Kloroform lebih dikenal karena kegunaannya sebagai bahan pembius, walaupun pada kenyataannya kloroform lebih banyak digunakan sebagai pelarut semi polar di laboratorium atau industri (Amonette *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian Rachmawati *et al.* (2010), Hasil uji golongan senyawa aktif dalam fraksi kloroform adalah senyawa fenol dan terpenoid, sehingga aktivitas antibakterinya diakibatkan oleh kandungan senyawa tersebut. Alifyaturohmah *et al.* (2013), ekstrak kloroform dari *Sargassum polycystum* memiliki aktivitas tertinggi dikarenakan adanya senyawa antibakteri. Senyawa yang terkandung pada ekstrak kloroform yaitu fenol, alkaloid dan steroid.

3. Etil asetat

Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan komponen senyawa antioksidan yang bersifat polar maupun non-polar sehingga menghasilkan beragam senyawa antioksidan yang memiliki aktivitas sangat kuat walaupun rendemennya rendah dibandingkan dengan pelarut polar (Gazali *et al.*, 2018). Putri (2014) melaporkan bahwa Ekstrak alga cokelat *Sargassum* sp. mengandung senyawa flavonoid, saponin, fenol, steroid dan triterpenoid. Senyawa bioaktif dapat ditentukan melalui uji fitokimia serta memiliki peran penting dalam aktivitas antioksidan (Winarsi 2007). Ekstrak etil asetat *Sargassum* sp. menunjukkan hasil positif terhadap senyawa fenol hidrokuino dan menunjukkan hasil negatif terhadap senyawa triterpenoid, senyawa triterpenoid memiliki aktivitas sebagai senyawa antibakteri (Gazali *et al.*, 2018). Pelarut etil asetat menunjukkan reaksi positif pada uji senyawa flavonoid dan polifenol pada ekstrak batang kecombrang (*Etilingera elatior*) (Susana *et al.* 2018).

4. Metanol

Menurut sejarahnya, metanol disebut alkohol kayu (Fessenden dan Fessenden, 1997). Metanol merupakan pelarut polar-protik yaitu yang dapat memberikan ion (OH^-) sehingga lebih mudah berinteraksi dengan gugus fungsional yang polar (Marnoto *et al.*, 2012). Metanol juga merupakan cairan penyari yang mudah masuk kedalam sel melewati dinding sel bahan, sehingga metabolit skunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna (Lenny, 2006). Hasil penelitian Savitri *et al.*, (2017), tentang penelitian jenis pelarut

ekstrak *Sargassum polycystum* mengandung senyawa yang cenderung bersifat polar seperti senyawa fenol, menunjukkan bahwa pelarut metanol merupakan pengeksrak yang baik untuk mengekstrak senyawa pada *Sargassum polycystum*.

Berdasarkan tabel indeks kepolaritasan menurut polaritas larutan kimia (Synder dan Swan 1978):

Tabel 1. Indeks polaritas larutan kimia

Pelarut	Indeks polaritas
n-heksana	0,1
Kloroform	4,1
Etil asetat	4,4
Metanol	5,1

G. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri merupakan teknik untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Datu, 2017). Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz *et al.*, 2001). Secara umum dikenal 3 metode utama untuk uji antimikroba yaitu difusi agar, dilusi dan pengenceran agar (Rante, 2010).

1. Metode Difusi Agar

Metode difusi agar digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba atau seringn juga dinamakan uji daya hambat. Pada metode difusi agar dapat dilakukan dengan 3 cara:

a. Cara Cakram (*Disc*)

Metode difusi agar dilakukan dengan bahan uji yang telah dilarutkan dalam pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam sumuran atau diteteskan pada paper disk. Kemudian ditanam dalam medium padat yang telah berisi mikroba uji. Setelah inkubasi diamati adanya zona bening di sekitar sumuran atau paper disk. Kemampuan bahan uji menghambat bakteri uji ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram uji dan dievaluasi : ukuran zona bening >20 mm tergolong sangat kuat (*very strong inhibition*), 11-19 mm tergolong kuat (*strong inhibition*), 5-10 mm tergolong sedang (*moderate inhibition*) dan <5 mm tergolong lemah (*weak inhibition*) Metode difusi cakram kertas memiliki kelebihan yaitu cepat, mudah dan murah karena tidak memiliki alat khusus (Katrín *et al.*, 2015).

b. Cara Parit

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk disekitar parit (Bonang, 1995).

c. Cara Sumuran (*Hole/cup*)

Metode difusi sumuran, metode difusi sumuran yaitu dengan membuat lubang pada media agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang dimasukkan ekstrak yang diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmiyati dan Agustini, 2006).

2. Metode Dilusi

Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibition Concentration*), Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Metode dilusi dilakukan dengan mencampur sampel, mikroba uji, dan media inokulasi dengan beberapa variasi pengenceran. Aktivitas yang diamati dengan kontrol tanpa adanya bahan uji (Datu, 2017).

3. Metode Pengenceran Agar

Metode pengenceran agar Metode pengenceran agar sangat cocok untuk pemeriksaan sekelompok besar isolat versus rentang konsentrasi antimikroba yang sama (Sacher & McPherson, 2004). Kelemahan metode ini yaitu hanya dapat digunakan untuk isolasi tipe organisme yang dominan dalam populasi campuran (Jawetz *et al.*, 2005).