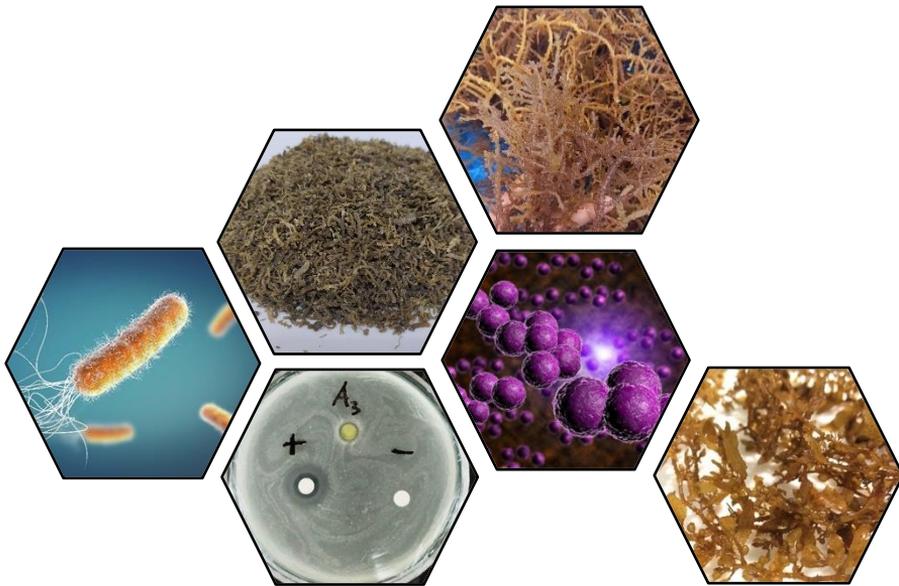


**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN  
SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL TIGA SPESIES  
RUMPUT LAUT**



**APRILLA FATYA CLARIZA SUHERMAN  
L051 18 1325**



**PROGRAM STUDI PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN  
DEPARTEMEN PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN  
SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL TIGA SPESIES  
RUMPUT LAUT**

**APRILLA FATYA CLARIZA SUHERMAN  
L051 18 1325**



**PROGRAM STUDI PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN  
DEPARTEMEN PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN  
SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL TIGA SPESIES  
RUMPUT LAUT**

APRILLA FATYA CLARIZA SUHERMAN  
L051181325

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan

Pada

**PROGRAM STUDI PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN  
DEPARTEMEN PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**SKRIPSI**  
**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN**  
**SENYAWA AKTIF EKSTRAK METANOL TIGA SPESIES**  
**RUMPUT LAUT**

**APRILLA FATYA CLARIZA SUHERMAN**  
**L051181325**

Skripsi

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada tanggal 21 Agustus 2024  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pada

Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan  
Departemen Perikanan  
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Kasmianti, STP. MP., Ph.D  
NIP. 197408162003122001



Dr. Ir. Ophirtus Sumule, DEA  
NIP. 195910251987111001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi  
Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan



Dr. Ir. Mep Petrus Nelwan, M.Si  
NIP. 196601151995031002

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Aktivitas Antibakteri dan Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Tiga Spesies Rumput Laut" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Kasmiati, STP. MP., Ph.D dan Dr. Ir. Ophirtus Sumule, DEA). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 21 Agustus 2024



Aprilia ratya Clariza Suherman  
L051181325

## PERNYATAAN AUTHORSHIP

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Aprilla Fatya Clariza Suherman  
Nim : L051181325  
Program Studi : Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan  
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan bahwa publikasi sebagian atau keseluruhan isi skripsi pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin dan menyertakan Tim Pembimbing atau author dan Universitas Hasanuddin sebagai instansinya. 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 satu dari penulis berhak mempublikasikan pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian sepanjang nama mahasiswa tetap dicantumkan.

Mengetahui:  
Ketua Program Studi

Makassar, 21 Agustus 2024  
Penulis



Dr. Ir. Alfa Filep Petrus Nelwan, M.Si  
NIP. 196601151995031002



Aprilla Fatya Clariza Suherman  
L051181325

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah rabbil alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT. atas berkah, rahmat dan perlindungan serta kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul, "Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Tiga Spesies Rumput Laut" sebagai salah satu syarat tugas akhir pada jenjang studi Strata Satu (S1) di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Sukses dan terampungnya skripsi ini berkat bimbingan, diskusi serta arahan yang penuh perhatian dalam pengambilan dalam penyelesaian skripsi tidak lain yaitu ibu Kasmianti, STP. MP., Ph.D sebagai pembimbing-1 dan bapak Dr. Ir. Ophirtus Sumule, DEA sebagai pembimbing-2 yang selalu memberikan saran dan masukan serta motivasi dalam pengerjaan skripsi. Kepada bapak Dr. Syahrul, S.Pi., M.Si dan Dr. Fahrul, S.Pi., M.Si saya ucapkan terima kasih selaku penguji yang juga memberikan saran dalam penyempurna penulisan skripsi, dan tak lupa juga seluruh staf dan pengajar Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, terkhususnya Departemen Perikanan yang sangat membantu dari segi ilmu dan administrasi selama perkuliahan.

Ucap terima kasih juga kepada seluruh staf dan anggota Laboratorium Mikrobiologi Laut FIKP UNHAS (terkhusus ibu Huyyirnah dan Kak Fiqhy Hafsur Pratiwi) yang telah membantu penulis dalam proses analisis data. Tidak lupa saya ucapkan juga terima kasih kepada team Seaweed (Afifah Anas, Dwi Endang Setiawati, M. Audy Faulandy, Winda Marhatun Soleha, Nurul Febriani, dan Srijayanti Kala'lembang,) selaku teman penelitian rumput laut serta kakak-kakak PUI-P2RL (Kak Winda Wijaya, S. Kel., Kak Nur Fitri Fakhriah Yunus, S.Pi. dan Kak Dea Pramita, S.Pi.) yang selalu membantu serta memberikan saran dan semangat kepada penulis dan menemani dalam penyusunan skripsi selama penelitian, serta teman-teman PSP 2018 (Fiva, Dwi, Vita, Firda, dan Fira) yang banyak membantu penulis dalam penulisan Skripsi.

Akhirnya, kepada orang tua (Suherman Usman dan Rahmy Haniawaty Asnur) yang tercinta penulis mengucapkan limpah terima kasih atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama penulis menempuh pendidikan. Penghargaan besar penulis ucapkan terima kasih kepada sahabat penulis (Ega, Ida, Nini, dan Lulu) yang selalu membantu, memberi semangat, doa serta motivasi dalam penulisan Skripsi penulis.

Makassar, 21 Agustus 2024

Penulis,



Aprilla Fatya Clariza Suherman

## ABSTRAK

APRILLA FATYA CLARIZA SUHERMAN. **Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Metanol Tiga Spesies Rumput Laut** (Dibimbing oleh Kasmianti dan Ophirtus Sumule)

**Latar Belakang.** Ancaman ketahanan pangan oleh penyakit yang menyerang ikan, udang, dan tanaman budidaya bahkan manusia. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan penggunaan ekstrak bahan alam seperti rumput laut yang memiliki aktivitas antibakteri. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri ekstrak metanol rumput laut jenis *E. denticulatum*, *L. intricata*, dan *S. polycystum* terhadap bakteri penyebab pembusukan ikan yaitu *P. aeruginosa* dan *S. aureus*, serta mengidentifikasi golongan senyawa aktif yang dikandung ekstrak aktif. **Metode.** Sampel rumput laut dibersihkan, dikeringanginkan, dibuat menjadi simplisia, lalu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap kedua bakteri uji tersebut. Identifikasi golongan senyawa aktif diuji secara kualitatif. **Hasil.** Berdasarkan diameter zona bening dan zona halo yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak terhadap *P. aeruginosa* yang terbentuk pada ekstrak metanol *E. denticulatum* (7,52 dan 11,75 mm), *S. polycystum* (7,75 dan 10,67 mm), dan *L. intricata* (7,83 dan 10,63 mm). Sedangkan diameter zona bening dan halo terhadap bakteri *S. aureus* yang terbentuk pada ekstrak metanol *E. denticulatum* (6,92 dan 9,97 mm), *S. polycystum* (7.30 dan 8.57 mm), dan *L. intricata* (7.43 dan 9.15 mm). **Kesimpulan.** Ketiga ekstrak metanol menunjukkan sensitivitas yang lebih tinggi terhadap bakteri *P. aeruginosa* dibandingkan dengan bakteri *S. aureus*. Terdapat kandungan alkaloid, flavonoid, dan fenolik pada ketiga jenis ekstrak, tetapi tidak mengandung senyawa aktif golongan terpenoid. Teridentifikasi pula hanya ekstrak metanol *S. polycystum*, dan ekstrak metanol *L. intricata* yang positif mengandung senyawa saponin, sedangkan ekstrak metanol *E. denticulatum* menunjukkan hasil yang negatif.

**Kata Kunci:** Antibakteri, kelompok senyawa aktif, *Euचेuma denticulatum*, *Sargassum polycystum*, *Laurencia intricata*

## ABSTRACT

APRILLA FATYA CLARIZA SUHERMAN. **Antibacterial Activity and Identification of Active Compound Group from Methanolic Extract of Three Seaweed Species** (Supervised by Kasmianti and Ophirtus Sumule)

**Background.** Threats to food security by diseases that attack fish, shrimp, cultivated plants, and even humans. This problem can be overcome using natural extract such as antibacterial extract from seaweed. **Aim.** This research aimed to determine the antibacterial activity of the methanol extracts of the seaweed *E. denticulatum*, *L. intricata*, and *S. polycystum* against bacteria that cause fish spoilage, namely *P. aeruginosa* and *S. aureus*, as well as identify the group of active compounds of the active extract. **Method.** Samples were cleaned, air-dried, transferred into simplicia, and then extracted using the maceration method with methanol solvent. Test the antibacterial activity of those extracts against two bacterial tests. The identification of active compound groups was tested qualitatively. **Results.** Based on the diameter of the clear and halo zones for *P. aeruginosa* formed in the methanolic extracts of *E. denticulatum* (7.52 and 11.75 mm), *S. polycystum* (7.75 and 10.67 mm), and *L. intricata* (7.83 and 10.63 mm). Meanwhile, the diameter of the clear zone and halo zones against *S. aureus* formed in the same extract of *E. denticulatum* (6.92 and 9.97 mm), *S. polycystum* (7.30 and 8.57 mm), and *L. intricata* (7.43 and 9.15 mm). **Conclusion.** The three methanolic extracts showed higher sensitivity to *P. aeruginosa* compared to *S. aureus* bacteria. There are alkaloid, flavonoid, and phenolic groups in the three methanolic extracts, but they do not contain terpenoid group. It was also identified that only the methanolic extracts of *S. polycystum* and the *L. intricata* were positive for saponin group. In contrast, the methanolic extract of *E. denticulatum* showed negative results for that saponin.

Keywords: antibacterial, active compound group, *Eucheuma denticulatum*, *Sargassum polycystum*, *Laurencia intricata*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	v
PERNYATAAN AUTHORSHIP .....	vi
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan dan Manfaat .....	2
BAB II METODE PENELITIAN.....	3
2.1. Waktu dan Tempat.....	3
2.2. Alat dan Bahan.....	3
2.3. Metode Pengambilan Data .....	4
2.4. Analisis Data .....	7
BAB III HASIL .....	8
3.1. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut .....	8
3.2 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Rumput Laut .....	11
BAB IV PEMBAHASAN .....	12
4.1. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut .....	12
4.2. Kandungan Golongan Senyawa Aktif Ekstrak.....	13
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	14
5.1 Kesimpulan.....	14
5.2 Saran.....	14
DAFTAR PUSTAKA .....	15
LAMPIRAN.....	18

**DAFTAR TABEL**

Nomor urut	Halaman
1 Kandungan golongan senyawa aktif .....	11

## DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1 Peta lokasi pengambilan sampel rumput laut .....	3
2 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar metanol <i>Eucheuma denticulatum</i> terhadap <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. Aureus</i> .....	8
3 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar metanol <i>Sargassum polycystum</i> terhadap <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i> .....	9
4 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar metanol <i>Laurencia intricata</i> terhadap <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i> .....	9
5 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar <i>E. denticulatum</i> terhadap <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i> . .....	10
6 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar <i>S. polycystum</i> terhadap <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i> .....	10
7 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar <i>L. intricata</i> terhadap <i>P. aeruginosa</i> dan <i>S. aureus</i> .....	11

**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor urut	Halaman
1 Ekstraksi Sampel .....	18
2 Persiapan Media dan Bakteri Uji.....	18
3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>E. denticulatum</i> .....	19
4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>S. polycystum</i> .....	19
5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>L. intricata</i> .....	19
6. Hasil Uji Fitokimia .....	20

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Pencarian senyawa bioaktif dari bahan-bahan alam semakin intensif dilakukan untuk meminimalkan penggunaan senyawa sintesis yang berdampak buruk bagi manusia dan lingkungan (Thomford *et al.*, 2018). Rumput laut sebagai produsen utama ekosistem laut telah digunakan sebagai bahan pangan dan obat-obatan sejak berabad-abad lalu khususnya di China, Korea dan Jepang (Dhargalkar dan Pereira, 2005). Akhir-akhir ini, rumput laut semakin banyak diteliti karena potensinya menghasilkan senyawa baru dengan beragam aktivitas biologi. Senyawa baru yang dimaksud penting untuk mengatasi berbagai masalah pangan (Santos *et al.*, 2018) dan kesehatan (Brown *et al.*, 2014) seperti antioksidan (Corsetto *et al.*, 2020), antibakteri (Agbaje-Daniels *et al.*, 2020), antijamur (De Corato *et al.*, 2017; Kasmiasi, 2018), antiinflamasi (Barbalace *et al.*, 2019; Alkhalaf, 2021), dan antikanker (Isnansetyo *et al.*, 2016; Kasmiasi, 2018).

Ancaman ketahanan pangan oleh penyakit yang menyerang ikan, udang, dan tanaman budidaya bahkan manusia yang dapat menyebabkan terjadinya gagal panen akibat meningkatnya resistensi organisme terhadap antibiotik komersial yang digunakan dalam jangka panjang. Selain itu, terdapat bakteri yang menyebabkan ikan menjadi tidak layak konsumsi karena menginduksi terbentuknya histamin antara lain *Morganella morgani*, *Staphylococcus* sp., dan *Klebsiella* sp. (Mangunwardoyo, 2007). Usaha mempertahankan kesegaran ikan dengan pendinginan menggunakan es sering tidak efektif khususnya di wilayah tropis saat musim hasil tangkapan berlimpah. Hal tersebut membuka peluang penggunaan secara ilegal bahan kimia berbahaya seperti formalin untuk mengawetkan hasil tangkapan baik ikan, udang, ataupun cumi-cumi.

Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan penggunaan ekstrak bahan alam seperti rumput laut yang memiliki aktivitas antibakteri (Firmansyah *et al.*, 2017) dengan mengkombinasikan ekstrak aktif dan suhu rendah. Bioaktivitas rumput laut ditentukan oleh kandungan metabolit sekunder diantaranya senyawa polifenol (Bungau *et al.*, 2019), fukoidan (Ale and Meyer, 2013), astaksantin (Huangfu *et al.*, 2013), dan terpenoid (Joung *et al.*, 2020). Metabolit sekunder tersebut sangat berguna bagi kelangsungan hidup manusia dan telah dimanfaatkan dalam berbagai bidang seperti nutrisi (Wells *et al.*, 2016), stimulasi fungsi pencernaan (Corona *et al.*, 2017), nutrasetika (Cotas *et al.* 2020), kosmetik (Piamental *et al.*, 2017), dan pertanian (Patel *et al.*, 2017).

Perairan Sulawesi Selatan dihuni berbagai jenis rumput laut baik yang dibudidayakan maupun yang tumbuh liar. Studi tentang bioaktivitas rumput laut dari wilayah ini masih sangat terbatas jika dibandingkan dengan spons (Kasmiasi *et al.*, 2018). Salah satu jenis rumput laut budidaya yang berkembang di Sulawesi Selatan adalah rumput laut merah *Eucheuma denticulatum* yang dikenal dengan nama dagang *Eucheuma spinosum* yang memiliki duri (*spine*) pada permukaannya.

Spesies tersebut memiliki keunggulan yaitu lebih tahan terhadap perubahan kondisi lingkungan dan serangan hama dibandingkan dengan spesies utama *E. cottonii*. Jenis *E. denticulatum* menjadi pilihan budidaya saat terjadi kegagalan panen *E. cottonii* akibat serangan hama khususnya pada akhir tahun sekitar bulan Oktober sampai awal tahun sekitar Februari.

Penelitian tentang aktivitas antibakteri rumput laut dari berbagai perairan telah banyak dilaporkan, diantaranya ekstrak rumput laut merah *E. cottonii* dari perairan kota Sorong Papua Barat menunjukkan aktivitas yang tinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* (Sukmawati, 2021), dan ekstrak rumput laut coklat *Padina australis* dari perairan Chonburi Thailand memiliki aktivitas yang tinggi terhadap bakteri patogen *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (Klomjit *et al.*, 2021). Penelitian sejenis dilaporkan juga oleh Moubayed *et al.* (2017) bahwa ekstrak beberapa jenis *Sargassum* sp. dari Laut Merah Arab Saudi menunjukkan aktivitas yang tinggi terhadap *Salmonella* dan *Candida albicans*. Penelitian terdahulu dilaporkan oleh Jung *et al.* (2013) bahwa ekstrak etanol *Sargassum sagamianum* berasal dari Perairan Busan Korea Selatan memiliki aktivitas terhadap bakteri pembentuk histamin *Photobacterium phosphoreum* dengan nilai konsentrasi hambat minimum 0,0156 mg/mL.

Sejauh ini, penelitian tentang potensi ekstrak rumput laut *Eucheuma denticulatum*, *Sargassum polycystum*, dan *Laurencia intricata* untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab pembusukan ikan masih terbatas. Dengan demikian penting melakukan penelitian ini untuk menguji kemampuan ekstrak metanol *E. denticulatum* dari perairan Punaga Kabupaten Takalar, *S. polycystum* dari perairan Bone, dan *L. intricata* dari perairan Bulukumba sebagai antibakteri untuk menghambat aktivitas bakteri penyebab pembusukan pada ikan segar. Melalui penelitian ini juga dilakukan identifikasi golongan senyawa aktif sebagai metabolit sekunder ekstrak *E. denticulatum*, *S. polycystum*, dan *L. intricata* yang mendukung bioaktivitasnya.

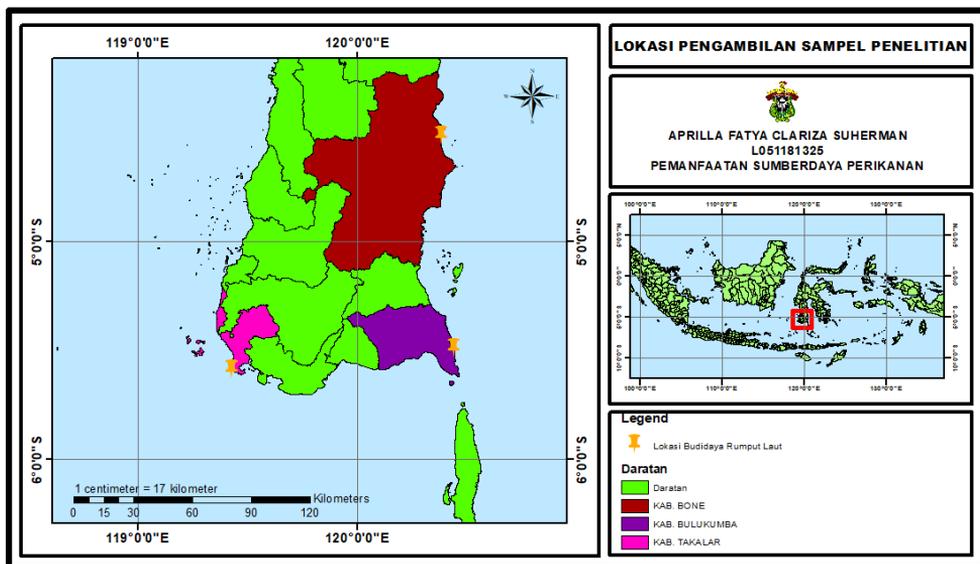
## 1.2. Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian ini menentukan aktivitas antibakteri ekstrak metanol *E. denticulatum*, *S. polycystum*, dan *L. intricata* serta menentukan secara kualitatif golongan senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak aktif tersebut. Manfaat penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi tentang potensi pemanfaatan rumput laut *E. denticulatum*, *S. polycystum*, dan *L. intricata* sebagai bahan antibakteri yang berdampak pada peningkatan nilai tambah ketiga rumput laut tersebut yang secara ekonomi masih bernilai rendah. Identifikasi juga dilakukan agar mengoptimalkan pemanfaatan senyawa bioaktif ekstrak rumput laut yang beragam, salah satunya sebagai antibakteri.

## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1. Waktu dan Tempat

Pengambilan sampel *E. denticulatum* dilakukan di Perairan Desa Punaga Kecamatan Mangarabombang Kabupaten Takalar, *S. polycystum* diambil di Perairan Bone dalam wilayah Tanjung Pallette Kelurahan Pallette Kecamatan Tanete Riattang Timur Kabupaten Bone, dan *L. intricata* diambil di perairan Bulukumba Sulawesi Selatan. Penelitian dilaksanakan pada bulan September hingga Desember 2022. Titik pengambilan sampel ditentukan menggunakan *Global Positioning System* (GPS) sebagaimana terlihat pada Gambar 1. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri penyebab pembusukan pada ikan yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin. Preparasi sampel rumput laut dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan (THP) Fakultas Ilmu Kelautan dan perikanan (FIKP), ekstraksi dan uji aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut di Laboratorium Mikrobiologi Laut FIKP, dan identifikasi golongan senyawa aktif dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.



Gambar 1 Peta lokasi pengambilan sampel rumput laut

### 2.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave*, *hotplate*, inkubator, *vortex*, *magnetic stirrer*, oven, pompa vakum, *rotary vacuum evaporator*, *waterbath*, timbangan analitik, blender, *Laminary air flow*, jangka sorong, bunsen, cawan petri, corong buchner, peralatan gelas dan plastik, GPS, serta kamera handphone. Bahan

yang digunakan yaitu rumput laut *Eucheuma denticulatum*, *Sargasum polycystum*, dan *Laurencia intricata*, metanol, *P. aeruginosa* dan *S. aureus*, nutrisi agar (NA), *ciprofloxacin*, aluminium foil, dimetil sulfoksida (DMSO), NaCl 2,5%, reagen Dragendorf, reagen Mayer, reagen Lieberman Burchard, akuades,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , dan  $\text{FeCl}_3$ , *paper disc* 6mm, kertas saring Whatman no.1, dan alkohol 70%.

### 2.3. Metode Pengambilan Data

#### 1. Teknik pengumpulan dan preparasi sampel

Rumput laut dikumpulkan dengan metode *purposive sampling* sesuai dengan tujuan penelitian. Sampel dikumpulkan dari hasil panen nelayan pembudidaya di Desa Punaga Kabupaten Takalar yang diketahui sebagai sentra budidaya *E. cottonii* dan *E. denticulatum*. Sampling didahului dengan berkomunikasi dengan nelayan pembudidaya yang akan melakukan panen dan bersedia dibeli hasil panennya. Panen rumput laut *E. denticulatum* akan dilakukan setelah berumur 42-45 hari. *S. polycystum* mudah ditemukan mengapung di Perairan Tanjung Pallette. Sampling dilakukan satu kali dengan mengumpulkan seluruh bagian *S. polycystum* yang disebut tallus. Kriteria pengambilan sampel adalah sesuai dengan ciri morfologi *S. polycystum* yaitu tallus silindris berduri kecil, mempunyai gelembung udara (bladder) yang umumnya tidak berkelompok, dan warna tallus cenderung cokelat.

*S. polycystum* yang mengambang di permukaan laut dikumpulkan lalu dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran yang menempel seperti lumut dan rumput laut jenis lain. *L. intricata* yang umumnya melekat pada batu dan tersebar luar di daerah terumbu karang pada perairan Bulukumba, dikumpulkan lalu dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran yang menempel seperti lumut dan rumput laut jenis lain.

Sampel dikumpulkan dengan mengikuti aktivitas panen nelayan pada pagi hari sekitar pukul 07.00 – 10.00 WITA. Tali bentangan tempat mengikat rumput laut *E. denticulatum* dilepaskan dari tiang pancang lalu dipindahkan ke atas perahu kemudian diangkat ke tepi pantai. Rumput laut *E. denticulatum* dilepaskan dari tali kemudian lalu dimasukkan ke dalam *styrofoam*. Rumput laut *S. polycystum* dan *L. intricata* yang juga di kumpulkan lalu dipindahkan ke atas perahu dan dimasukkan ke dalam *styrofoam* kemudian dibawa ke tepi pantai untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium di Makassar.

Setibanya di laboratorium, rumput laut dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang masih menempel seperti lumpur, lumut, kerang dan garam, terakhir dibilas dengan akuades. Sampel ditiriskan lalu dikeringanginkan dalam ruangan yang tidak terpapar sinar matahari langsung sambil sewaktu-waktu dibalik hingga dihasilkan rumput laut kering yang memiliki berat konstan. Sampel kering ditimbang lalu dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serpihan rumput laut yang disebut simplisia yang disimpan dalam wadah kedap udara sebelum proses ekstraksi.

## 2. Ekstraksi sampel

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Masing-masing sebanyak 150 g simplisia *E. denticulatum* dan *L. intricata* direndam dalam 600 ml pelarut metanol (1:4 b/v), dan sebanyak 250 g simplisia *S. polycystum* direndam dalam 1.750 ml pelarut metanol (1:7 b/v). Wadah maserasi adalah botol kaca bertutup volume 2 L, dinding wadah diselubungi dengan aluminium foil untuk meminimalkan kontak langsung antara campuran sampel-pelarut dengan cahaya matahari dan lampu. Maserasi berlangsung selama 3 hari dengan pengadukan secara berkala setiap jam di siang hari pada suhu ruang. Hasil maserasi disaring dengan bantuan pompa vakum menggunakan filter kertas Whatman No. 1 untuk memisahkan ampas dari homogenat. Selanjutnya homogenat dikonsentrasikan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 - 45°C. Selanjutnya ekstrak dikumpulkan dalam botol kaca.

## 3. Uji aktivitas antibakteri ekstrak

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar metanol *E. denticulatum*, *S. polycystum*, dan *L. intricata* dimulai dengan persiapan alat, media, bakteri uji, dan ekstrak. Semua alat termasuk cawan petri, gelas piala, erlenmeyer, tabung reaksi, jarum ose dan spatula dibungkus dengan kertas lalu distrilisasi kering menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Media pengujian yaitu dan *nutrient agar* (NA) disterilisasi basah menggunakan *autoclave* suhu 121°C selama 15 menit.

### 3.1 Persiapan media dan bakteri uji

Media NA untuk bakteri uji dibuat dengan melarutkan 23 g NA dalam 1 L akuades, kemudian dipanaskan hingga larut. Media NA disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media didinginkan hingga mencapai suhu sekitar 50°C sebelum dituang ke cawan petri yang sudah disterilkan. Bakteri uji diremajakan pada media agar miring steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### 3.2 Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol *E. denticulatum*, *S. polycystum*, dan *L. intricata* dilakukan dengan metode difusi agar merujuk pada Bauer *et al.* (1996) dan Christobel *et al.* (2011) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1 mL masing-masing kultur bakteri diinokulasi pada media NA dalam cawan petri. Ekstrak metanol diambil sebanyak 1 mg lalu dilarutkan dalam 50 µl pelarutnya hingga larut sempurna. Selanjutnya diambil 10 µl dan diaplikasikan pada *paper disc* diameter 6 mm dengan dosis 200 µl/disk.

Setelah pelarut menguap, masing-masing disk ditetesi 5 µl DMSO kemudian diletakkan pada media agar yang telah mengandung bakteri uji. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik komersial *ciprofloxacin* 5 µl/disk (El Shafay *et al.*, 2016) sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO 5 µl/disk. Cawan petri yang telah mengandung sampel uji dibungkus dengan *plastic wrap* dan diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam. Zona bening atau zona halo yang terbentuk di sekeliling disk menunjukkan adanya penghambatan aktivitas bakteri oleh ekstrak. Besarnya diameter zona penghambatan bakteri adalah besar diameter penghambatan yang dinyatakan dalam suatu mm sebagai nilai rata-rata dari tiga kali pengulangan.

### 3.3 Pengukuran zona hambat

Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong (*caliper*). Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat dari tepi ke tepi zona hambat, termasuk diameter *paper disc* (Hudzicki, 2016). Bila tidak terdapat zona hambat yang terbentuk atau diameternya sama dengan diameter *paper disc*, maka zona hambatnya bernilai 0 mm.

## 4. Identifikasi golongan senyawa aktif

Identifikasi golongan senyawa aktif dilakukan terhadap ekstrak *E. denticulatum*, *S. polycystum*, dan *L. intricata* yang menunjukkan aktivitas terhadap bakteri uji. Pengujian dilakukan secara kualitatif untuk menentukan golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak yaitu saponin, steroid, tanin, flavonoid, dan alkaloid. Prosedur identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak rumput laut, yaitu:

### 4.1 Uji alkaloid

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam 2 tabung berbeda. Tabung I ditambahkan beberapa tetes reagen Dragendorff (hasil uji positif ditandai dengan timbulnya endapan berwarna jingga/merah.kuning). Tabung II ditambahkan beberapa tetes reagen Mayer. Hasil uji positif ditandai dengan timbulnya endapan berwarna krim kekuningan.

### 4.2 Uji Flavanoid

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung lalu ditambahkan beberapa tetes  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  1%. Hasil uji positif ditandai dengan timbulnya endapan kuning.

### 4.3 Uji Terpenoid (Triterpenoid atau Steroid)

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL ditambahkan 0,5 mL reagen Lieberman Burchard dan didiamkan selama 5 menit, Hasil uji positif ditandai dengan perubahan warna merah/ungu untuk triterpenoid dan perubahan warna hijau/biru untuk steroid).

### 4.4 Uji Saponin

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL ditambahkan 0,5 mL akuades kemudian dikocok dengan kencang. Hasil uji positif ditandai dengan timbulnya buih/busa yang bertahan lebih dari 30 detik.

### 4.5 Uji Fenolik

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL ditambahkan 0,5 mL aquades kemudian

ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil uji positif ditandai dengan timbulnya endapan berwarna merah/ungu/hijau/biru/hitam.

#### **2.4. Analisis Data**

Data hasil pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak dinyatakan dalam nilai rata-rata diameter zona penghambatan dalam satuan mm (milimeter). Data hasil identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak dinyatakan sebagai data kualitatif. Data yang dihasilkan dijelaskan secara deskriptif serta disajikan dalam bentuk gambar dan tabel.