

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FUCOIDAN  
DAN FLOROTANIN ALGA COKELAT (SARGASSUM BINDERI) SEBAGAI  
AGEN ANTISEPTIK**



**ANDI DEVANI MIHARA MANDICA  
J011211036**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2023**

Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
SENYAWA FUCOIDAN DAN FLOROTANIN ALGA COKELAT  
(SARGASSUM BINDERI) SEBAGAI AGEN ANTISEPTIK**

**ANDI DEVANI MIHARA MANDICA  
J011211036**



**Pembimbing:  
Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BMM.,  
Subsp.Ortognat-D (K)**



**PENDIDIKAN DOKTER GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA  
FUCOIDAN DAN FLOROTANIN ALGA COKELAT (SARGASSUM  
BINDERI) SEBAGAI AGEN ANTISEPTIK**

ANDI DEVANI MIHARA MANDICA  
J011211036

Skripsi  
Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana  
Pendidikan Dokter Gigi



**PENDIDIKAN DOKTER GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**SKRIPSI**  
**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA FUCOIDAN DAN**  
**FLOTANIN ALGA COKELAT (SARGASSUM BINDERI) SEBAGAI AGEN**  
**ANTISEPTIK**

**ANDI DEVANI MIHARA MANDICA**  
**J011211036**

Skripsi,  
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Kedokteran Gigi pada  
tanggal 28 Desember 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan  
pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi  
Departemen Bedah Mulut  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:  
Pembimbing tugas akhir,

Mengetahui:  
Ketua Program Studi,



Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D.,  
Sp.BMM., Subsp. Ortognat-D (K),  
NIP. 197307022001121001



Muhammad Iqbal, drg., Ph.D., Sp. Pros.,  
Subsp., PKIKG(K)  
NIP. 198010212009121002

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Perbandingan Aktivitas Antibakteri Senyawa Fucoidan dan Florotanin Alga Cokelat (*Sargassum binderi*) sebagai Agen Antiseptik" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BMM., Subsp.Ortognat-D (K). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. 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, 24 Agustus 2024



ANDI DEVANI MIHARA MANDICA  
J011211036

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT berkat rahmat dan berkah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik akibat banyaknya pihak yang mendukung dengan tulus. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BMM., Subsp.Ortognat-D (K), Wakil Rektor I Universitas Hasanuddin yang juga merupakan pembimbing saya. Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan skripsi ini dapat terampung berkat bimbingan, diskusi dan arahan beliau.
2. Saya juga mengucapkan berlimpah terima kasih kepada dosen penguji saya, Surijana Mappangara, drg., M.Kes., Sp.Perio (K). dan Andi Tajrin, drg., M.Kes., Sp. B.M.M., Subsp.C.O.M. (K) serta dosen-dosen lain yang terlibat dalam mendukung saya menyusun skripsi ini, seperti Prof. Dr. Nurlindah Hamrun., M.Kes dan Andi Sitti Hajrah Yusuf, drg., M.S.
3. Tim kedaireka, yaitu Sabila, Ayod, dan Imran. Penulis bersama mereka saling membantu dalam mengambil alga di Takalar dan berjuang mengerjakan penelitian di laboratorium.
4. Grup Untouchable, Atikah, Wiwi, lin, Nura, dan Sabila. Sahabat-sahabat terbaik yang telah menemani, menghibur, dan mendukung dari semester pertama hingga penulis berhasil menyelesaikan skripsi.
5. Keluarga penulis. Kakak Al, Kakak Ami, Kakak Gibran, Kakak Rizka, Qushay, dan Gia. Atas kasih sayang dan semangat dari mereka, penulis terus termotivasi untuk menyelesaikan skripsi.
6. Akhirnya dan yang paling penting, kepada Muji Gani HBM dan Sri Muryani, kedua orang tua, penulis mengucapkan berlimpah terima kasih dan rasa syukur atas jasa, doa, dan pengorbanan tak ternilai yang telah diberikan dari kecil hingga sekarang.

Penulis juga tak lupa ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak lain yang telah mendukung dan tak dapat disebutkan namanya satu persatu. Berkat seluruhnya, peneliti mampu menyelesaikan skripsi untuk memenuhi syarat sebagai sarjana di Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin.

Penulis,

Andi Devani Mihara Mandica



## ABSTRAK

ANDI DEVANI MIHARA MANDICA. **Perbandingan Aktivitas Antibakteri Senyawa Fucoidan dan Florotanin Alga Cokelat (*Sargassum binderi*) sebagai Agen Antiseptik** (dibimbing oleh Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BMM., Subsp.Ortognat-D (K))

**Latar belakang.** Prevalensi karies dan abses tinggi di Indonesia, menimbulkan ancaman kesehatan serius, termasuk pneumonia dan endokarditis infeksi. Infeksi ini, yang sering disebabkan oleh *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*, menekankan perlunya perawatan pencegahan, seperti obat kumur antiseptik. Namun, banyak dari obat kumur ini mengandung bahan sintetis yang memiliki efek samping berbahaya pada jaringan mulut jika digunakan dalam jangka panjang, termasuk pelepasan epitel, ulserasi mukosa, gingivitis, dan petechiae. Hal ini menunjukkan perlunya alternatif alami yang lebih aman. Fucoidan dan florotanin yang berasal dari rumput laut cokelat memiliki sifat antibakteri yang signifikan, menunjukkan potensinya sebagai pengganti bahan sintetis yang efektif dan lebih aman. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan menguji aktivitas antibakteri fucoidan dan florotanin dari *Sargassum binderi* untuk menjadi alternatif antiseptik yang aman. **Metode.** Sampel alga diambil dari perairan Punaga, Sulawesi Selatan kemudian dideterminasi, dikeringkan, dibuat menjadi simplisia serta diekstraksi. Ekstrak yang dihasilkan dikarakterisasi melalui uji FTIR. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. **Hasil.** Senyawa fucoidan dan florotanin *Sargassum binderi* menunjukkan aktivitas antibakteri. Florotanin menunjukkan efektivitas yang lebih baik pada kedua bakteri dibandingkan fucoidan. **Kesimpulan.** Fucoidan dan florotanin memiliki aktivitas antibakteri sehingga berpotensi menjadi bahan alami alternatif pada obat kumur.

Kata kunci: fucoidan; florotanin; alga cokelat; antiseptik



## ABSTRACT

ANDI DEVANI MIHARA MANDICA. **Comparison of Antibacterial Activity of Fucoidan and Florotanin Compounds of Brown Algae (*Sargassum binderi*) as Antiseptic Agent** (supervised by Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.BMM., Subsp.Ortognat-D (K))


**Background.** The prevalence of caries and abscesses remain high in Indonesia, posing serious health threats, including pneumonia and infectious endocarditis. These infections, often caused by *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* underscore the need for preventive care, such as antiseptic mouthwashes. However, many contain synthetic ingredients with harmful side effects to oral tissues with prolonged use, including epithelial detachment, mucosal ulceration, gingivitis, and petechiae. This highlights the need for safer and natural alternatives. Fucoidan and florotanin derived from brown seaweed have natural significant antibacterial properties, suggesting their potential as effective and less harmful substitutes for synthetic ingredients. **Objective.** This study aimed to test the antibacterial activity of fucoidan and florotanin from *Sargassum binderi* as a safe antiseptic alternative. **Methods.** Algae samples were collected from the waters of Punaga, South Sulawesi, then identified, dried, processed into simplicia, and extracted. The resulting extract was characterized using FTIR testing. Antibacterial activity testing was conducted using the disk diffusion method against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. **Results.** *Sargassum binderi* fucoidan and florotanin compounds showed antibacterial activity. Florotanin showed better effectiveness on both bacteria than fucoidan. **Conclusion.** Fucoidan and florotanin have an antibacterial properties, making them potential alternatives for mouthwash ingredients.

Keywords: fucoidan; florotanin; brown algae; antiseptic





## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK .....	vi
<i>ABSTRACT</i> .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat .....	3
BAB II METODE PENELITIAN .....	4
2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	4
2.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
2.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian.....	4
2.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	5
2.5 Teknik dan Besar Sampel dalam Penelitian .....	6
2.6 Alat dan Bahan .....	7
2.7 Prosedur Penelitian.....	8
4.8 Alur Penelitian.....	13
 .....	14
asi Sampel .....	14
.....	14
kteri.....	15

BAB IV PEMBAHASAN.....	19
4.1 Pembahasan Hasil Uji Gugus Fungsional (FTIR).....	19
4.2 Pembahasan Hasil Uji Antibakteri .....	20
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	23
5.1 Kesimpulan .....	23
5.2 Saran .....	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN .....	27



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## DAFTAR TABEL

1. Hasil pengukuran diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*<sup>a</sup> ..... 16
2. Hasil Pengukuran diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ..... 17



## DAFTAR GAMBAR

1. Alur penelitian .....	13
2. Sargassum binderi yang diperoleh dari Takalar .....	14
3. Hasil Spektrum uji FTIR dari ekstrak fucoidan dan standarnya (A), ekstrak florotanin dan standarnya (B) .....	14
4. Aktivitas antibakteri fucoidan (A) dan florotanin (B) terhadap bakteri Streptococcus mutans .....	16
5. Aktivitas antibakteri fucoidan (A) dan florotanin (B) terhadap bakteri Staphylococcus aureus .....	17
6. Rerata zona hambat fucoidan dan florotanin terhadap Streptococcus mutans.....	20
7. Rerata zona hambat fucoidan dan florotanin terhadap Staphylococcus aureus ....	21



## DAFTAR LAMPIRAN

1. Surat Izin .....	27
2. Hasil Identifikasi Morfologi Alga Cokelat.....	30
3. Surat Persetujuan Atasan .....	30
4. Rekomendasi Etik .....	31
5. Peta Lokasi Pengambilan Sampel .....	31
6. Dokumentasi Penelitian .....	32
7. Daftar Riwayat Hidup .....	35
8. Rincian Biaya Penelitian .....	40



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Prevalensi gigi rusak/berlubang/sakit di Indonesia berdasarkan hasil Survei Kesehatan Indonesia 2023 mencapai 43,6% dan keluar bisul (abses) sebesar 7,3%. (Badan Kebijakan Pembangunan Kesehatan, 2023) Karies dan abses yang tidak diobati akan menyebabkan sakit berlebihan dan meningkatkan risiko perluasan lesi sampai ke leher dan sinus intrakranial. Lebih jauh lagi, karies dan abses dapat menyebabkan infeksi sistemik yang mengancam nyawa, seperti, rheumatoid arthritis, pneumonia aspirasi, dan endokarditis infektif (Del Giudice et al., 2021; Sanders and Houck, 2023).

Mikroorganisme memiliki peran penting pada masalah karies dan abses. Bakteri seperti *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* merupakan beberapa mikroorganisme penyebab karies dan infeksi oro-fasial (Achmad et al., 2020; Hamrun et al., 2020; Maurischa et al.). *Streptococcus* menempati proporsi yang signifikan dari semua mikroflora dalam mulut, yaitu sekitar 45% dari total sampel yang dihitung dari permukaan dorsal lidah, 46% dari mikroflora saliva, 28% dari mikroflora plak gigi, dan 29% dari flora sulkus gingiva (Peled et al., 2023). Mikroorganisme tersebut memiliki peran yang signifikan terhadap pembentukan plak dan karies gigi. Sebuah penelitian menunjukkan prevalensi *Staphylococcus aureus* pada infeksi gigi, termasuk abses gigi mencapai 43,1% dengan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebesar 23,5%, menunjukkan adanya infeksi mulut yang signifikan (Al-Akwa et al., 2020).

Obat kumur antiseptik menjadi salah satu upaya mengendalikan masalah pada gigi dan mulut akibat bakteri. Obat kumur mampu menghilangkan bakteri di bagian interdental yang tidak terjangkau oleh sikat gigi, dapat menjaga kesegaran mulut, mengeliminasi benda asing yang sering tertinggal di dalam mulut serta efektif menekan bakteri merugikan yang dapat hidup di dalam mulut (Harun and Febrianti S, 2022; Juliantoni and Wirasisya, 2019; Reum Shin and Hee Nam, 2018).

Obat kumur di pasaran saat ini mengandung lebih dari satu bahan aktif untuk mendukung kebersihan rongga mulut, seperti bahan sintesis dengan kandungan alkohol, klorheksidin glukonat, triklosan, dll. Bahan-bahan tersebut memiliki banyak efek samping yang merugikan, seperti gangguan rasa, stomatitis alergi, dan efek samping lainnya. Selain itu, etanol dengan konsentrasi yang tinggi dapat menjadi cairan yang agresif mengakibatkan kerusakan jaringan rongga mulut, menyebabkan



l, ulserasi mukosa, gingivitis, petekie, dan lesi putih pada  
ka panjang. Masalah tersebut menekankan perlunya bahan baku  
ompatibel pada produk kumur serta efektif sebagai antiseptik  
018; Vikneshan et al., 2020).

an ekspedisi Laut Sibolga oleh Van Bosse pada tahun 1899-1900,  
di kurang lebih 555 jenis dari 8.642 spesies rumput laut yang

terdapat di seluruh dunia. Rumput laut (alga) tersebut diklasifikasikan atas empat kelas, yaitu *Chlorophyceae* (alga hijau), *Rhizophyceae* (alga merah), *Cyanophyceae* (alga biru-hijau), dan *Phaeophyceae* (alga cokelat). Alga yang melimpah dapat ditemukan di perairan dengan tempat dan kondisi tertentu, seperti melekat pada bebatuan dan terumbu karang yang umumnya ditemukan di wilayah pesisir (Pakidi and Suwoyo, 2017).

*Phaeophyceae* (alga cokelat), khususnya genus *Sargassum sp.* merupakan salah satu jenis rumput laut yang tersebar luas di Indonesia dan memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi (Pakidi and Suwoyo, 2017). *Sargassum sp.* memiliki banyak kandungan senyawa yang berpotensi dimanfaatkan dalam bidang farmasi. Berdasarkan beberapa penelitian, genus alga tersebut memiliki senyawa aktif steroida, alkaloida, fenol, triterpenoid dengan aktivitas biologis yang signifikan, seperti antibakteri, antivirus, dan antijamur. Selain senyawa-senyawa tersebut, fucoidan dan florotanin pada *Sargassum sp.* memiliki agen antibakteri yang berpotensi menghambat bakteri patogen pada manusia (Jun et al., 2018).

Berdasarkan beberapa studi, komponen bioaktif fucoidan dan florotanin pada berbagai alga cokelat mampu berperan sebagai antibakteri. Fucoidan dan florotanin dari alga tertentu mampu menghambat berbagai bakteri dengan sifat anti-adhesi dan penghambat asam nukleatnya (Achmad et al., 2020; Shannon and Abu-Ghannam, 2016).

Sejauh ini penelitian terkait pada uji antibakteri fucoidan dan florotanin *Sargassum binderi* pada bakteri penyebab masalah gigi dan mulut serta perbandingan keduanya belum tersedia khususnya di Indonesia. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan mempelajari, menguji, dan membandingkan aktivitas antibakteri komponen bioaktif fucoidan dan florotanin alga cokelat *Sargassum binderi* untuk ditelusuri potensinya sebagai agen antiseptik sehingga dapat dikembangkan menjadi bahan yang memiliki efek terapeutik yang luas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah senyawa bioaktif fucoidan dan florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* memiliki aktivitas antibakteri?
2. Bagaimana perbandingan efek antibakteri senyawa bioaktif fucoidan dan florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi*?

## 1.3 Tujuan Penelitian



n  
ujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri senyawa fucoidan dan  
i cokelat *Sargassum binderi* sebagai agen antiseptik.  
is  
tujuan mempelajari perbandingan aktivitas antibakteri senyawa  
dan florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* sebagai agen

## 1.4 Manfaat

### 1. Manfaat Teoritis

- a. Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang pemanfaatan tumbuhan alga cokelat *Sargassum binderi* di bidang medis.
- b. Menjadi bahan pertimbangan dalam penyusunan penelitian pemanfaatan bahan aktif lain pada tumbuhan alga cokelat *Sargassum binderi*.
- c. Menjadi salah satu acuan yang bisa digunakan untuk memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan di bidang kedokteran gigi bedah mulut dan maksilofasial pada khususnya.

### 2. Manfaat Praktis

- a. Menemukan bahan baku obat kumur yang efektif dan aman tanpa efek merugikan, sehingga dapat meningkatkan kesehatan mulut jangka panjang dan mengurangi risiko efek samping pada pengguna.
- b. Memberdayakan masyarakat petani rumput laut dengan pembudidayaan alga cokelat *Sargassum binderi*.
- c. Menghasilkan hak paten (HKI) pada penelitian aktivitas antibakteri alga cokelat *Sargassum binderi*.





## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian *true experimental laboratory*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan *the post test only control group design* untuk menilai daya hambat senyawa fucoidan dan florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* pada bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram.

### 2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

#### 2.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober – Desember 2023.

#### 2.2.1 Tempat Penelitian

Pengambilan sampel alga cokelat *Sargassum binderi* dilakukan di pesisir Pantai Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan. Titik pengambilan sampel yaitu 5°34'41.2"S 119°25'37.9"E. Penelitian dilakukan di Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Kelautan Departemen Biologi serta Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Biofarmaka Fakultas Farmasi, dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

### 2.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

#### 2.3.1 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Senyawa fucoidan dan florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* dengan deret konsentrasi masing-masing 100, 50, 25, 12,5 mg/mL, kontrol negatif (DMSO 10%), dan kontrol positif (amoxicillin).

2. Variabel terikat

Kemampuan fucoidan dan florotanin *Sargassum binderi* menghambat pertumbuhan dan mengukur diameter zona hambat endali ri uji berupa *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*, (MHA), dan waktu serta suhu inkubasi (24 jam pada suhu 37C) ak terkendali *ssum binderi*.



### 2.3.2 Definisi Operasional Penelitian

1. Alga cokelat *Sargassum binderi*  
Alga cokelat yang dimaksud merupakan alga cokelat yang tumbuh di pesisir Pantai Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan.
2. Ekstrak Florotanin *Sargassum binderi*  
Merupakan kandungan senyawa aktif dari alga cokelat *Sargassum binderi* berupa ekstrak florotanin yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.
3. Ekstrak Fucoidan *Sargassum binderi*  
Merupakan kandungan senyawa aktif dari alga cokelat *Sargassum binderi* berupa ekstrak florotanin yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut HCl 0,1N pH 4 pada suhu ruang selama 6 jam.
4. Bakteri uji  
Bakteri yang diuji pada penelitian ini terdiri atas:
  - a. *Streptococcus mutans*, bakteri yang bersifat anaerob fakultatif dan merupakan bakteri gram positif yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin
  - b. *Staphylococcus aureus*, bakteri yang bersifat anaerob fakultatif dan merupakan bakteri gram positif yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin
5. Daya Hambat Fucoidan dan Florotanin  
Merupakan kemampuan senyawa fucoidan dan florotanin dari *Sargassum binderi* menghambat pertumbuhan bakteri. Daya hambat dinyatakan sebagai diameter zona hambat (mm). Diameter hambatan diukur berdasarkan zona bening di sekitar cakram dengan menggunakan jangka sorong.
6. Kontrol Positif  
Kontrol positif ujiantibakteri penelitian ini menggunakan antibiotik amoxicillin
7. Kontrol Negatif  
Kontrol negatif ujiantibakteri penelitian ini menggunakan DMSO 10%
8. Antiseptik  
Merupakan suatu biosida atau produk yang merusak atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

### 2.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi



#### isi

*assum binderi* yang diambil merupakan sampel segar dan masih di substrat tempat tumbuh.

### 2.4.2 Kriteria Eksklusi

Sampel alga cokelat *Sargassum binderi* yang melayang di perairan/pantai dan telah lepas dari substrat

### 2.5 Teknik dan Besar Sampel dalam Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* untuk pengambilan sampel dan *simple random* untuk pengelompokan bahan uji. Besar sampel penelitian yang digunakan dihitung menggunakan rumus Federer. Rumus Federer digunakan untuk menentukan jumlah pengulangan atau jumlah sampel agar data yang diperoleh valid. Rumus Federer adalah sebagai berikut:

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah kelompok

$$\text{Rumus Federer: } (n-1)(t-1) \geq 15$$

Penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi dari masing-masing senyawa fucoidan dan florotanin *Sargassum binderi*, kontrol positif, dan kontrol negatif ( $t = (4 \times 2) + 2$ )

$$(n-1)(10-1) \geq 15$$

$$9(n-1) \geq 15$$

$$9n - 9 \geq 15$$

$$9n \geq 24$$

$$n \geq 2,6$$

(dibulatkan maka menjadi 3 kali pengulangan)

Pembagian kelompok perlakuan:

- a) Kelompok A: fucoidan konsentrasi 100 mg/mL = 3 sampel
- b) Kelompok B: fucoidan konsentrasi 50 mg/mL = 3 sampel
- c) Kelompok C: fucoidan konsentrasi 25 mg/mL = 3 sampel
- d) Kelompok D: fucoidan konsentrasi 12,5 mg/mL = 3 sampel
- e) Kelompok E: florotanin konsentrasi 100 mg/mL = 3 sampel
- f) Kelompok F: florotanin konsentrasi 50 mg/mL = 3 sampel
- g) Kelompok G: florotanin konsentrasi 25 mg/mL = 3 sampel



florotanin konsentrasi 12,5 mg/mL = 3 sampel

kontrol positif (amoxicillin) = 3 sampel

kontrol negatif (DMSO 10%) = 3 sampel

= 30 tiap bakteri

## 2.6 Alat dan Bahan

### 2.6.1 Alat

1. Batang pengaduk
2. Blender simplisia
3. Bunsen
4. Cawan petri
5. Corong (Short-Stem Funnel 100 mm, Herma, China)
6. Corong pisah 500 ml
7. *Freezer*
8. *Freeze dryer*
9. Gelas kimia (Iwaki CTE33 1000 ml, AGC, Thailand)
10. Gelas objek
11. Gelas ukur kimia (Iwaki OTE33 1000 ml, Asahi Glass, Indonesia)
12. Inkubator
13. Jangka sorong digital
14. Kain saring
15. Kertas cakram
16. Labu Erlenmeyer (Iwaki TE-32 1000 ml, Pyrex Asahi Techno Glass, Jepang)
17. *Laminary air flow*
18. *Magnetic stirrer* (C-MAG MS 7, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman)
19. Ose
20. *Oven dryer* (Memmert Universal Oven UN110, Memmert GmbH + Co. KG, Jerman)
21. Rotary evaporator (Rotavapor R-220, Buchi, Swiss; RV 10 digital, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman)
22. Sentrifuse (Model MX-305, Tomy, Jepang)
23. Spektrofotometer Infra-Red (FTIR 8400S Spectrometer, Shimadzu, Jepang)
24. Spidol permanen
25. Tabung reaksi
26. Tiang statik
27. Timbangan analitik digital (FSR-B 1000 gram, Fujitsu, Jepang; PioneerTM Plus Analytical PA124, Ohaus, Amerika Serikat)
28. Timbangan digital (SF-400, Morizt, China)
29. Toples kaca sampel

### 2.6.2 Bahan



uabides  
*coccus aureus* dan *Streptococcus mutans*  
 lin  
 dan florotanin *Sargassum binderi*

7. Etil asetat
8. Handscoen dan masker
9. Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ )
10. Kertas saring (Whatman Grade 1 6 mm *Qualitative Filter Papers* 11 $\mu\text{m}$ , GE Healthcare, Amerika Serikat)
11. Media cair Brain Heart Infusion (BHI)
12. Natrium klorida ( $\text{NaCl}$ )

## 2.7 Prosedur Penelitian

1. Pengambilan dan determinasi sampel
2. Pembuatan Simplisia
3. Ekstraksi fucoidan dan florotanin *Sargassum binderi*
4. Uji analisis *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)
5. Pembuatan sediaan ekstrak
6. Uji aktivitas antibakteri
7. Pengamatan
8. Analisis data

### 2.7.1 Pengambilan dan Determinasi Sampel

1. Alga cokelat *Sargassum binderi* diambil di Pantai Punaga, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Sampel yang telah dipetik dari substrat kemudian dibilas dengan air tawar untuk menghilangkan kotoran dan sedimen. Sampel lalu ditempatkan pada ember berisi air laut yang kemudian dibawa ke laboratorium.
2. Determinasi alga, determinasi bertujuan untuk memastikan jenis alga cokelat yang digunakan dalam penelitian adalah *Sargassum binderi*. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Kelautan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

### 2.7.2 Pembuatan Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan. Prosedur dimulai alga cokelat dengan dikering-anginkan di tempat teduh atau tidak terkena matahari secara langsung selama  $\pm 3$  hari, kemudian dilanjutkan dengan *oven Herbs Dryer* pada suhu sekitar  $45^\circ\text{C}$  selama  $\pm 12$  jam. Total sampel *Sargassum binderi* 500 gram simplisia kering. Kemudian dilakukan proses blender simplisia agar didapat hasil sampel berupa serbuk kering.



#### coidan dan Florotanin *Sargassum binderi*

ksi fucoidan yang digunakan yaitu ekstraksi menggunakan  $\text{CaCl}_2$  dan  $85^\circ\text{C}$  dilakukan dengan menggunakan metode dari literatur dengan modifikasi (Husni et al., 2022)

1. Simplisia *Sargassum binderi* direndam dalam  $\text{CaCl}_2$  2% (1:20) (b/v) lalu diekstraksi sambil diaduk selama 4 jam pada suhu 85 °C.
2. Penyaringan dilakukan dengan menggunakan kain saring, kemudian filtrat disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit. Filtrat dipisahkan dari endapannya dan ke dalam filtrat ditambah etanol (1:2).
3. Hasil endapan yang diperoleh dilarutkan dalam air dan disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit (sampai benar-benar larut). Filtrat yang diperoleh didialisis dengan 0,5 M NaCl dan akuabides sehingga diperoleh ekstrak fucoidan, lalu dikering bekukan.

Ekstraksi senyawa florotanin dari Alga coklat dilaksanakan dengan mengacu pada metode (Li et al., 2017) dengan modifikasi.

1. Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Metode yang digunakan adalah metode maserasi. Simplisia *Sargassum binderi* sebanyak 500 gram yang sudah dikeringkan kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 b/v. Selanjutnya, diinkubasi dalam magnetic stirrer selama 60 menit pada suhu kamar dengan kecepatan 200 rpm, lalu didiamkan selama 2 hari dengan dilakukan pengadukan setiap hari.
2. Simplisia kemudian disaring dengan menggunakan kain saring dan filtrat ditampung dalam tabung erlenmeyer. Proses ekstraksi dengan metode maserasi pada serbuk simplisia dilakukan sebanyak dua kali (duplikat) untuk mendapatkan hasil ekstrak yang maksimal.
3. Hasil campuran kemudian disentrifugasi (3.000 rpm, 10 menit, suhu kamar) dan supernatan diambil.
4. Selanjutnya, filtrat dikumpulkan dan pelarut diuapkan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 45°C dan kecepatan rotasi 28 rpm selama 150 menit. Ekstrak alga coklat *Sargassum binderi* yang didapatkan berupa ekstrak kental sebanyak 120 gram.
5. Ekstrak etanol kental kemudian diekstraksi kembali dengan pelarut etil asetat. Ekstrak etanol kental sebanyak 120 gram didispersikan dalam etil asetat dengan perbandingan solid/liquid ratio 1:5 (b/v) dan diinkubasi dalam magnetic stirrer (30 menit, suhu kamar, 200 rpm), dan didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam.
6. Setelah diinkubasi larutan ekstrak terpisah menjadi dua lapisan. Lapisan yang dibawah adalah ekstrak etanol dan fase yang diatasnya adalah fraksi t. Fraksi etil asetat selanjutnya diambil menggunakan corong pisah atkan fraksi etil asetat sebanyak 560 mL. umpulkan dan pelarut dihilangkan dengan *rotary evaporator* pada °C, kecepatan 60 rpm dengan waktu 55 menit dan didapatkan ental florotanin 10,254 gram.



ental florotanin kemudian disimpan di freezer pada suhu -20°C, ing-bekukan dengan metode *freeze-dried* sebelum digunakan.

#### 2.7.4 Uji Analisis *Fourier-Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)

*Fourier Transform Infrared* (FT-IR) merupakan salah satu metode pengukuran untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi gugus fungsi penyusun senyawa. Pengujian FTIR dilakukan pertama kali untuk mengetahui informasi terkait ikatan kimia yang ada pada fucoidan dan florotanin alga cokelat *Sargassum binderi*. Uji analisis dengan teknik FT-IR menggunakan alat spektrofotometri Shimadzu 8400S buatan Jepang, dengan prosedur sebagai berikut. (Nandiyanto et al., 2019)

1. Digunakan aplikasi FTIR 8400 pada komputer.
2. Sampel florotanin dan fucoidan *Sargassum binderi* sejumlah 1 mg dimasukkan ke dalam sample holder mesin FTIR.
3. Pada menu aplikasi kemudian dilakukan scanning dengan FTIR 8400 pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 765 nm.
4. Didapatkan hasil nilai absorbansi dengan standar yang digunakan adalah asam galat, yaitu standar yang digunakan untuk mengetahui ekspresi kandungan fenolik dengan nilai equivalen asam galat (1 gram asam galat/kg ekstrak).
5. Spektrum yang diperoleh muncul pada layar beserta nilai panjang gelombang.
6. Hasil dianalisis data berdasarkan gugus fungsi pada bilangan gelombang tertentu

#### 2.7.5 Pembuatan Sediaan Ekstrak

Sediaan dibuat dengan pengenceran bertingkat menggunakan DMSO 10% sebagai pelarut sehingga menghasilkan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 mg/mL ekstrak fucoidan dan florotanin. Pengenceran ekstrak menggunakan rumus sebagai berikut :

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Keterangan:

V1: Volume larutan ekstrak yang diambil (mL)

C1: Konsentrasi ekstrak yang diambil (mL)

V2: Volume larutan yang akan dibuat (mL)

C2: Konsentrasi larutan yang akan dibuat (mL)

Perhitungan konsentrasi:

a) Konsentrasi 100 mg/mL

: 0,1 g/mL

= 1 g/10 mL (C1)

asi 50 mg/mL

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100 \times V_1 = 50 \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 250/100$$



- $V_1 = 2,5 \text{ mL}$
- c) Konsentrasi 25 mg/mL  
 $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$   
 $50 \times V_1 = 25 \times 5 \text{ mL}$   
 $V_1 = 125/50$   
 $V_1 = 2,5 \text{ mL}$
- d) Konsentrasi 12,5 mg/mL  
 $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$   
 $25 \times V_1 = 12,5 \times 5 \text{ mL}$   
 $V_1 = 62,5/25$   
 $V_1 = 2,5 \text{ mL}$

### 2.7.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram Metode tersebut dipilih karena lebih efisien dan akurat dibandingkan metode lain. Pengujian direplikasi sebanyak 3 kali berdasarkan perhitungan rumus Federer untuk validasi hasil uji. Prosedur mengikuti literatur sebelumnya dengan modifikasi (Carvalho et al., 2023; Webber et al., 2022),

#### 1. Persiapan suspensi dan kultur bakteri uji

Suspensi bakteri dibuat sesuai dengan standar McFarland. Pembuatan standard mac farland dilakukan dengan cara dua tabung disiapkan untuk standart Mac Farland 0,5% dan suspensi kuman. BaCl<sub>2</sub> 1% dipipet sebanyak 0,1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung pertama. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dipipet sebanyak 9,9 ml dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 0,1 ml BaCl<sub>2</sub>, dicampur sampai homogen. Campuran tersebut diambil 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung kedua lalu ditambahkan aquadest sebanyak 5 ml dan dicampur sampai homogen. Standart Mac Farland 0,5% siap digunakan sebagai pembanding suspensi kuman (kekeruhan yang terbentuk sebanding dengan kepadatan sel 1,5 juta CFU/ml)

Pembuatan suspensi bakteri yang akan diuji dilakukan dengan cara pembiakan bakteri. Diambil bakteri sebanyak 1-2 ose, lalu disuspensi ke dalam 15 mL MHB atau larutan salin 0,9%, dan diinkubasi selama 24 jam. Kekekruhan disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland atau sebanding dengan jumlah bakteri 10<sup>8</sup> (CFU)/mL.

#### 2. Persiapan medium agar

Persiapan medium agar dilakukan dengan melarutkan sebanyak 3,8 gram Mueller Hinton dalam aquadest sebanyak 100 ml, kemudian skan hingga mendidih disertai pengadukan sampai bubuk benar-arut, lalu MHA disterilkan di autoklaf pada suhu 121C selama 15 dan dituang ke cawan petri hingga mencapai kedalaman 4 mm. 1 memadat, agar dikeringkan pada suhu 30-37C dalam incubator ), dkk., 2018) (Panduan CLSI).





### 3. Prosedur difusi cakram

- 1) Masing-masing bakteri dari kultur broth  $10^8$  CFU/ml diinokulasi pada medium agar menggunakan jarum ose steril dengan teknik gores.
- 2) Medium agar yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 37C selama 24 jam.
- 3) Kertas cakram Whatman No. 1 digunting menjadi lingkaran berdiameter 6 mm
- 4) Setiap cakram direndam dengan 10  $\mu$ l masing-masing fucoidan dan florotanin konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 mg/mL, dan dibiarkan mengering.
- 5) Cakram lain direndam pada DMSO 10% untuk menjadi kontrol negatif.
- 6) Disiapkan cakram 25  $\mu$ l antibiotik amoxicillin sebagai kontrol positif
- 7) Cakram yang telah kering lalu ditempatkan dan ditekan secara perlahan pada agar dengan kultur bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans* yang telah disiapkan secara terpisah.
- 8) Cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37C selama 24 jam

#### 2.7.7 Pengamatan

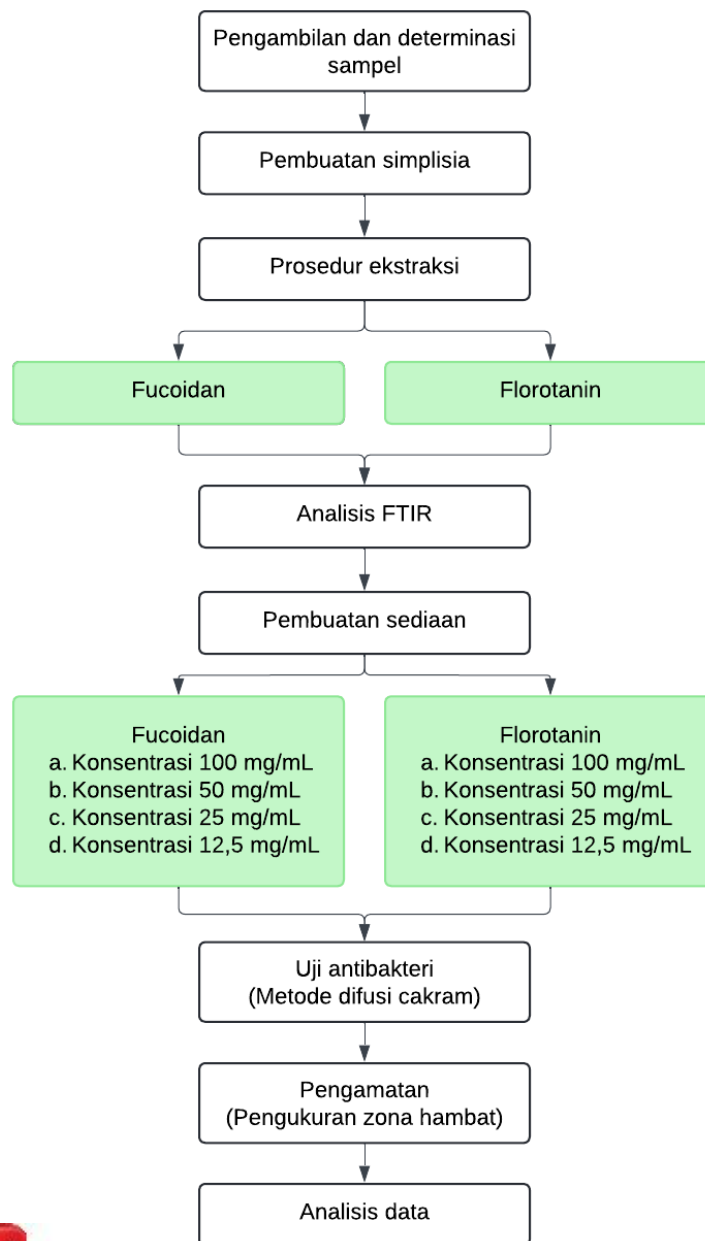
Zona hambat senyawa antibakteri dari fucoidan dan florotanin berupa area bening di sekeliling cakram, diukur secara terpisah berdasarkan diameter menggunakan jangka sorong (ketelitian 0.05 mm) lalu dirata-rata.

#### 2.7.8 Analisis Data

Dilakukan tiga kali pengulangan percobaan, kemudian hasil data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Uji normalitas dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk* berguna untuk mengetahui kenormalan distribusi data (karena data pengamatan < 50 sampel, jika hasil uji statistik nilai  $p > 0.05$  maka data berdistribusi normal). Uji homogenitas dilakukan dengan uji *Levene*. Uji hipotesis dilakukan dengan uji one way ANOVA untuk melihat perbedaan daya hambat masing-masing kelompok sampel. Setelah dilakukan uji *One- Way ANOVA*, dilakukan *Post Hoc Multiple Comparison Equal Variance by Tukey* untuk menentukan perbedaan yang bermakna dalam tiap kelompok. Apabila dari salah satu syarat uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilanjutkan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat adanya perbedaan. Jika terdapat perbedaan bermakna dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.



## 2.8 Alur Penelitian



Gambar 1. Alur penelitian

