

SKRIPSI

**BIOAKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA
AKTIF EKSTRAK RUMPUT LAUT *Turbinaria conoides* DARI
PULAU SAMALONA**

Disusun dan diajukan oleh

**ANDI TENRI NURUNNISA
L051 17 1003**



**PROGRAM STUDI PEMANFAATAN SUMBERDAYA PERIKANAN
DEPARTEMEN PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**BIOAKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIF
EKSTRAK RUMPUT LAUT *Turbinaria conoides* DARI PULAU SAMALONA**

Disusun dan diajukan oleh

**ANDI TENRI NURUNNISA
L051 17 1003**

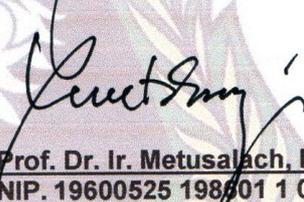
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin pada tanggal 18 Agustus 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Kasmianti, STP, MP., Ph. D
NIP. 19740816 200312 2 001


Prof. Dr. Ir. Metusalach, M. Sc
NIP. 19600525 198001 1 001

Ketua Program Studi,


Mukti Zainuddin, S.Pi., M.Sc., Ph. D
NIP. 19710703 199702 1 002



PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Andi Tenri Nurunnisa

NIM : L051 17 1003

Program Studi : Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan

Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

“Bioaktivitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Rumput Laut
Turbinaria conoides dari Pulau Samalona”

Adalah karya tulis saya sendiri, bukan merupakan pengambi alihan tulisan orang lain dan bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Agustus 2021

Yang menyatakan



Andi Tenri Nurunnisa

ABSTRAK

Andi Tenri Nurunnisa. L051171003. “Bioaktivitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Rumput Laut *Turbinaria conoides* dari Pulau Samalona” dibimbing oleh **Kasmiati** sebagai pembimbing utama dan **Metusalach** sebagai pembimbing anggota.

Rumput laut mengandung metabolit primer dan sekunder yang dapat diaplikasikan dalam bidang industri pangan, farmasi, kosmetik dan industri lainnya. Metabolit sekunder rumput laut memiliki aktivitas antibakteri, antivirus, antijamur dan toksisitas. Besarnya potensi sebagai agen antibakteri dan toksisitas menjadi alasan banyak peneliti untuk mengkaji bioaktivitas dari rumput laut dalam upaya pencarian senyawa-senyawa sebagai alternatif antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak metanol dan etil asetat *Turbinaria conoides*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari – Mei 2021. Sampel *T. conoides* diambil di Perairan Pulau Samalona Kecamatan Ujung Pandang Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Sampel diekstraksi dengan metode meserasi. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar, uji toksisitas menggunakan metode Brine *Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan uji fitokimia dengan metode pewarnaan. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak metanol *T. conoides* hanya aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* dengan diameter zona halo masing-masing 15,77 mm dan 13,37 mm. Ekstrak etil asetat menunjukkan penghambatan terhadap *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi* dengan diameter zona penghambatan pada rentang diameter 3,62 sampai 5,13 mm. Ekstrak metanol dan etil asetat tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Escherichia coli*. Zona halo yang terbentuk pada ekstrak metanol menunjukkan bahwa ekstrak metanol *T. conoides* bersifat bakteriostatik sedangkan zona bening dan halo yang terbentuk pada ekstrak etil asetat menunjukkan sifat bakterisidal dan bakteriostatik. Hasil uji toksisitas menunjukkan nilai LC_{50} -24 jam ekstrak metanol yaitu 147,52 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak etil asetat 45,00 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etil asetat *T. conoides* mengandung golongan senyawa aktif yang sama yaitu steroid/triterpenoid dan tanin. Metabolit sekunder *T. conoides* memiliki bioaktivitas yang kuat sehingga berpotensi sebagai antibiotik alternatif.

Kata kunci: rumput laut cokelat, *Turbinaria conoides*, bioaktivitas, fitokimia, toksisitas, BSLT, *Salmonella*

ABSTRACT

Andi Tenri Nurunnisa. L051171003. "Bioactivity and Identification of Active Compounds in the Extract of *Turbinaria conoides* from Samalona Island" supervised by **Kasmiati** as the main supervisor and **Metusalach** as the co-supervisor.

Seaweed contains primary and secondary metabolites that can be applied in the food, pharmaceutical, cosmetic and other industries. The secondary metabolites of seaweed have antibacterial, antiviral, antifungal and toxic activities. The magnitude of its potential as an antibacterial agent and its toxicity are the reasons for many researchers to study the bioactivity of seaweed as an effort to find compounds as alternative antibiotics. This study aimed to determine the bioactivity of methanol and ethyl acetate extracts of *Turbinaria conoides*. The study was conducted in February – May 2021. Samples of *T. conoides* were taken in the waters of Samalona Island, Ujung Pandang District, Makassar City, South Sulawesi. Samples were extracted by maceration method. Antibacterial and toxicity activities were measured using agar diffusion and Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) methods, respectively, while phytochemical test used a staining method. The results of the antibacterial activity test showed that the methanolic extract of *T. conoides* was only active against *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi* with a halo zone diameter of 15.77 and 13.37 mm, respectively. The ethyl acetate extract showed inhibition against *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio harveyi* with a diameter of inhibition zone ranged from 3.62 to 5.13 mm. Methanol and ethyl acetate extracts did not show any inhibitory activity against *Escherichia coli*. The halo zone formed in the methanol extract indicated that the methanolic extract of the *T. conoides* was bacteriostatic, while the clear and the halo zones formed in the ethyl acetate extract showed bactericidal and bacteriostatic properties. The toxicity test showed that the LC₅₀-24 hours of the methanol extract was 147.52 µg/mL, and the ethyl acetate extract was 45.00 µg/mL. Phytochemical test showed that both the methanol and ethyl acetate extracts of the *T. conoides* contained the same group of active compounds, namely steroids/triterpenoids and tannins. The secondary metabolites of the *T. conoides* have strong bioactivity, and therefore, are potential as alternative antibiotics.

Key words: Brown seaweed, *Turbinaria conoides*, bioactivity, phytochemical, toxicity, BSLT, *Salmonella*.



KATA PENGANTAR

Assalamu' Alaikum Warohmatullahi Wabarokatuh.

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan seluruh rangkaian penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Bioaktivitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Rumput Laut *Turbinaria conoides* dari Pulau Samalona”. Serta shalawat dan taslim selalu dilimpahkan kepada junjungan baginda Nabi Muhammad SAW atas suri tauladan dan bimbingannya kepada manusia di muka bumi ini.

Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana pada Departemen Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Selesainya penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi – tingginya kepada:

1. Kedua orang tuaku yang tercinta **Andi Rahmat S.E** dan **Sarleni**, beserta saudaraku **Andi Qariah Muthmainnah, A.Md. T** dan **Andi Muhammad Firjatullah Fatah** yang selalu mendukung dan memberikan doa kepada penulis. Sokongan materi maupun non materi yang menjadi motivasi penyelesaian studi ini.
2. Ibu **Kasmiati, STP, MP., Ph. D** selaku pembimbing utama yang selalu sabar, meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing penulis. Memberikan nasehat, motivasi, solusi atas setiap permasalahan dan ilmu yang sangat berperan penting dalam seluruh rangkaian penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.
3. Bapak **Prof. Dr. Ir. Metusalach, M. Sc** selaku pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis, memberikan saran dan ilmunya dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Bapak **Dr. Ir. Mahfud Palo, M.Si** selaku penasehat akademik penulis selama menempuh Pendidikan di Universitas Hasanuddin dan menjadi penguji bersama bapak **Dr. Ir. Ophirtus Sumule, DEA** yang telah memberikan pendapat, saran dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dosen pendamping pada perlombaan nasional Pekan Ilmiah Mahasiswa (PKM) Bapak **Prof. Dr. Ir. Sudirman, M.P.**, (PKM 2019), Ibu **Dr. Ir. Zuryati Djafar, MT.**, (PKM 2020) dan ibu **Dr. Nursinah Amir, S.Pi., M.P** (PIMNAS 33 tahun 2020) serta bapak ibu dosen **POKJA** yang telah memberikan pendampingan, ilmu, semangat dan nasehat kepada penulis dan tim dalam meraih prestasi terbaik.

6. Kakanda dan teman - teman seperjuangan dalam meraih prestasi pada perlombaan nasional Pekan Ilmiah Mahasiswa (PKM) **Muh. Ismail dan Fajar Hidayat** (Pendanaan PKM 2019); **Adi Nugraha, Kiran Salsabila, S.E., Abdul Rahman dan Muhammad Taufik** yang telah bekerja sama dengan baik, saling memberi semangat dan nasehat kepada tim dalam meraih prestasi terbaik (poster terbaik penghargaan setara perunggu pada Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) 33 tahun 2020.
7. **Nurhidayah Nurdin dan Andi Ardi Aman** yang selalu memberikan semangat, dukungan dan nasehat demi kelancaran penelitian dan penyusunan skripsi ini sekaligus menjadi tim dan telah bekerja sama dengan baik hingga memperoleh pendanaan pada ajang nasional Pekan Ilmiah Mahasiswa (PKM) tahun 2020.
8. Bapak/ibu dosen Departemen perikanan khususnya Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan atas ilmu pengetahuan yang diberikan dari awal perkuliahan sampai saat ini. Serta staf pegawai FIKP Unhas yang telah melancarkan pengurusan administrasi dari awal perkuliahan hingga penyelesaian masa studi.
9. Teman – teman seperjuanganku **Sitti Rahmadina, Reski Amelia Maharani, Fitriah Sultan, S.Pi dan Vivi Wulandari** yang selalu ada memberikan semangat, dukungan dan motivasi kepada penulis.
10. **Nur Sakinah Latuconsina, S.Pi** dan kakanda **Miftahul Khoir** yang telah membantu penulis selama pengambilan sampel di lapangan.
11. **Ibu Huyyirnah** dan kakanda **Fiqhy Hafsur Pratiwi** yang telah memberikan semangat, dukungan dan motivasi kepada penulis.
12. Teman – teman seperjuangan Program Studi **Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan Angkatan 2017** yang telah banyak membantu penulis selama masa perkuliahan, terima kasih atas pertemanan dan kerjasamanya.
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tentunya masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan yang disebabkan oleh keterbatasan penulis. Untuk itu melalui kesempatan ini penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menjadi perbaikan di masa yang akan datang.

Wassalamu Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Makassar, 18 Agustus 2021



Andi Tenri Nurunnisa

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Makassar, 25 Februari 1999 merupakan anak pertama dari 3 (tiga) bersaudara dari pasangan Rahmat dan Sarleni. Penulis menyelesaikan Pendidikan dasar di SD Negeri PAI Makassar pada tahun 2011, SMP Negeri 08 Makassar pada tahun 2014 dan SMA Negeri 21 Makassar pada tahun 2017. Selanjutnya, di tahun 2017 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang perguruan tinggi di Universitas Hasanuddin Makassar tepatnya di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Departemen Perikanan Program Studi Pemanfaatan Sumberdaya Perikanan. Penulis berhasil masuk di Universitas Hasanuddin melalui jalur SNPTN. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti perkuliahan, perlombaan dan berbagai kepanitiaan serta kepengurusan organisasi kemahasiswaan. Penulis Pernah meraih juara poster terbaik pada Lomba Karya Tulis Ilmiah Mahasiswa (LKTIM) 2019, Penerima Beasiswa PPA dari Kementrian RISTEKDIKTI 2019, Finalis LKTI Nasional di FPIK IPB 2019, Pendanaan Proposal PKM-T dengan Judul “Kedipan LEMBAR (Lampu LED Pemikat Bawah Air) 2019, Pendanaan Proposal PKM-KC dengan Judul “Coolbox dengan Tenaga Energi Air Laut” 2020, Peraih Medali Perunggu kategori poster pada PIMNAS 33 tahun 2020, menjadi Ketua Panitia dalam kegiatan PSP Field Trip KMP PSP KEMAPI FIKP UNHAS 2019, Tutor dan panitia pada kegiatan *Basic Learning Skills, Character and Creativity (BALANCE)* UNHAS 2019, Koordinator Divisi Hubungan Masyarakat dalam kegiatan PSP Festival 2019 dan menjadi Anggota Hubungan Masyarakat pada Badan Pengurus Harian KMP PSP KEMAPI FIKP UNHAS Periode 2020.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan dan Manfaat	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Gambaran Umum Pulau Samalona.....	3
B. Potensi Bioaktivitas Rumput Laut.....	3
C. <i>Turbinaria sp.</i>	4
1. <i>Turbinaria conoides</i>	5
D. Perkembangan Penelitian Rumput Laut Sebagai Antibakteri dan Antitumor	6
E. Ekstraksi	6
1. Ekstraksi cara dingin	7
1.1 Meserasi.....	7
1.2 Perkolasi	8
2. Ekstraksi cara panas	8
F. Bakteri Patogen.....	9
1. <i>Aeromonas hydrophila</i>	11
2. <i>Escherichia coli</i>	11
3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
4. <i>Salmonella typhi</i>	12
5. <i>Vibrio harveyi</i>	12
G. Antibakteri	13
1. Uji Aktivitas Antibakteri	14
2. Pengukuran zona hambat	14
H. Toksisitas	15
1. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)	16
2. Lethal Concentration 50 (LC ₅₀).	17
3. <i>Artemia Salina</i> Leach	18
I. Metabolit Sekunder	19
1. Flavonoid.....	20
2. Tanin	20
3. Alkaloid	21
4. Steroid/triterpenoid	21
5. Saponin.....	21
III. METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat.....	22
B. Alat dan Bahan	23

C. Metode Pengumpulan Data	24
D. Prosedur Penelitian.....	24
1. Pengumpulan dan Preparasi Sampel	25
2. Ekstraksi Sampel.....	26
3. Uji Bioaktivitas Ekstrak	26
3.1 Aktivitas Antibakteri	27
3.1.1 Persiapan media dan bakteri uji.....	27
3.1.2 Uji aktivitas antibakteri	27
3.1.3 Pengukuran zona hambat	27
3.2 Toksisitas	28
3.2.1 Penetasan telur <i>Artemia salina</i>	28
3.2.2 Uji toksisitas	28
3.2.3 Pengukuran parameter	28
4. Identifikasi Senyawa aktif	29
4.1 Uji Falvonoid.....	29
4.1.1 Uji $MgCl_2$	29
4.1.2 Uji $AlCl_3$	29
4.2 Uji Tanin	29
4.3 Uji Alkaloid.....	30
4.4 Uji Steroid/triterpenoid	30
4.5 Uji Saponin	30
E. Analisis Data.....	30

IV. HASIL

A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>Turbinaria conoides</i>	31
B. Toksisitas Ekstrak <i>Turbinaria conoides</i>	33
C. Kandungan Senyawa Aktif <i>Turbinaria conoides</i>	35

V. PEMBAHASAN

A. Aktivitas Antibakteri Ekstrak <i>Turbinaria conoides</i>	36
B. Toksisitas Ekstrak <i>Turbinaria conoides</i>	38
C. Kandungan Senyawa Aktif <i>Turbinaria conoides</i>	39

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	42
B. Saran	42

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Nilai tingkat toksisitas LC ₅₀ (Anderson, 1991)	18
2. Alat dan fungsi.....	23
3. Bahan dan fungsi	24
4. Hasil pengujian toksisitas ekstrak metanol dan etil asetat <i>T. conoides</i> selama 24 jam	33
5. Hasil perhitungan LC ₅₀ -24 jam.....	33
6. Kandungan senyawa aktif ekstrak <i>T. conoides</i>	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Pulau Samalona Kec. Ujung Pandang Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan	3
2. Rumput laut cokelat <i>Turbinaria conoides</i> yang terdapat di perairan sekitar Pulau Samalona.....	6
3. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	11
4. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	11
5. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
6. Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	12
7. Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	13
8. Pengukuran zona hambat bakteri menggunakan jangka sorong	14
9. Pengukuran zona hambat bakteri (a) Zona hambat <i>overloop</i> , (b) Zona hambat berbentuk lonjong	15
10. <i>Artemia salina</i> yang dilihat dari mikroskop.....	19
11. Peta lokasi pengambilan sampel <i>T. conoides</i> di perairan Pulau Samalona Kecamatan Ujung Pandang Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan...	22
12. Skema alur penelitian uji bioaktivitas dan identifikasi golongan senyawa aktif rumput laut <i>Turbinaria conoides</i>	25
13. Pengumpulan dan preparasi sampel (a) sampel basah, (b) sampel kering dan (c) simplisia	26
14. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> terhadap lima bakteri uji yaitu, <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhi</i> , <i>A. hydrophila</i> dan <i>V. harveyi</i>	31
15. Aktivitas antibakteri ekstrak <i>Turbinaria conoides</i> terhadap lima bakteri uji yaitu, <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhi</i> , <i>A. hydrophila</i> dan <i>V. harveyi</i> . (1) ekstrak etil asetat, (2) ekstrak metanol, (+) <i>ciprofloxasin</i> dan (-) DMSO..	32
16. Kurva toksisitas ekstrak metanol <i>Turbinaria conoides</i> terhadap <i>Artemia salina</i> pada pengamatan 24 jam.....	34
17. Kurva toksisitas ekstrak etil asetat <i>Turbinaria conoides</i> terhadap <i>Artemia salina</i> pada pengamatan 24 jam.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Pengambilan sampel rumput laut <i>T. conoides</i> di perairan sekitar Pulau Samalona	52
2. Preparasi dan ekstraksi sampel	52
3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak sampel	53
4. Pengujian toksisitas ekstrak sampel dan perhitungan nilai LC ₅₀ -24 jam	55
5. Hasil uji fitokimia	57

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki garis pantai sepanjang 95.181 Km dan merupakan garis pantai terpanjang kedua di dunia setelah Kanada. Sebagai negara kepulauan terbesar dengan jumlah pulau 17.504, Indonesia memiliki luas perairan laut mencapai 5,8 juta Km² (71% dari total luas wilayah) (<https://kkp.go.id/artikel/12993>). Indonesia merupakan salah satu negara dengan perairan laut berada di kawasan *The Coral Triangle* (CT) atau segitiga karang yang merupakan pusat keanekaragaman hayati global (Allen, 2007). Hal ini menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara yang memiliki keanekaragaman sumberdaya laut terkaya di dunia baik flora maupun fauna. Kekayaan biota laut Indonesia tersebut diantaranya spons, koral, rumput laut dan organisme lain yang berasosiasi dan menyumbang peran penting sebagai pusat paru-paru dunia (Donia & Haman, 2003).

Rumput laut merupakan tumbuhan tingkat rendah yang keseluruhan tubuhnya disebut tallus tanpa ada perbedaan akar, batang dan daun (Landau, 1992). Berdasarkan zat warna yang dikandung, rumput laut dibagi menjadi 3 kelompok yaitu rumput laut merah, hijau dan coklat. Rumput laut mengandung metabolit primer yang selama ini dimanfaatkan secara massal sebagai sumber agar, karaginan dan alginat untuk memenuhi kebutuhan industri pangan, kesehatan dan kosmetik (Siregar *et al.*, 2012).

Selain metabolit primer, rumput laut juga mengandung metabolit sekunder dengan senyawa aktif yang beragam dengan aktivitas yang luas sebagai antibakteri (Diachanty *et al.*, 2017; Ponnannan *et al.*, 2017), antivirus (Idacahyati *et al.*, 2020), antijamur (Julyasih & Arika, 2019) dan toksisitas (Ponnannan *et al.*, 2017). Besarnya potensi sebagai agen antibakteri dan toksisitas menjadi alasan banyak peneliti untuk mengkaji bioaktivitas dari rumput laut dalam upaya pencarian senyawa-senyawa antibakteri dan antitumor baru sebagai antibiotik alternatif terhadap mikroorganisme penyebab penyakit yang resisten terhadap antibiotik komersial (Yang *et al.*, 2018). Chauhan & Kasture (2014) melaporkan bahwa rumput laut kaya akan senyawa metabolit seperti terpen, alkaloid, steroid, asetogenin, polisakarida, asam lemak dan polifenolik dalam bentuk terhalogenasi dan memiliki aktivitas antimikrobia.

Turbinaria conoides merupakan salah satu jenis rumput laut coklat dari *family* Sargassaceae (Guiry & Guiry, 2015) yang mengandung sejumlah golongan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri (Diachanty *et al.*, 2017; Ponnannan *et al.*, 2017) dan mengandung fucoidan sebagai antikanker (Ward & Deyab, 2016; Isnansetyo *et al.*, 2017; Lutfia *et al.*, 2020). *T. conoides* umumnya tumbuh pada habitat terumbu karang.

Salah satu pulau yang terkenal dengan gugusan terumbu karangnya adalah Pulau Samalona dan perairan di sekitar pulau ini menjadi lokasi ditemukannya rumput laut jenis *T. conoides* (Kasmianti, 2018). Pulau Samalona merupakan salah satu pulau dalam gugusan Kepulauan Spermonde yang terletak di Kota Makassar, Sulawesi Selatan. Penelitian ini dimaksudkan untuk menginvestigasi potensi bioaktivitas dan identifikasi golongan senyawa aktif yang dikandung oleh ekstrak metanol dan etil asetat *T. conoides* yang berasal dari Pulau Samalona.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana bioaktivitas ekstrak metanol dan etil asetat *T. conoides*?
2. Golongan senyawa aktif apakah yang terkandung dalam ekstrak metanol dan etil asetat *T. conoides*?

C. Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui bioaktivitas ekstrak metanol dan etil asetat *T. conoides*.
2. Menentukan golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak metanol dan etil asetat *T. conoides*.

Manfaat dari penelitian ini adalah memperkaya khasana ilmu pengetahuan bidang yang terkait dan sebagai informasi potensi bioaktivitas rumput laut di perairan Sulawesi Selatan khususnya *T. conoides*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Gambaran Umum Pulau Samalona

Pulau Samalona merupakan sebuah pulau kecil yang terletak di Kecamatan Ujung Pandang Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan. Jaraknya sekitar 6,8 Km dari kota Makassar (Gambar 1). Pulau Samalona secara administratif termasuk wilayah Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan. Luas wilayah Pulau Samalona yaitu 2,34 Ha dengan batas wilayah; sebelah utara berbatasan dengan Pulau Kayangan, sebelah timur berbatasan dengan Pulau Lae Lae, sebelah selatan dan barat berbatasan dengan Selat Makassar (Profil Pulau Samalona Tahun 2014) (Nurdin, 2016). Pulau Samalona merupakan salah satu pulau dalam gugusan Kepulauan Spermonde sehingga memiliki potensi yang besar dalam kekayaan alam lautnya. Pulau ini terkenal dengan gugusan terumbu karangnya dan perairan di sekitar pulau ini mejadi salah satu lokasi ditemukannya rumput laut jenis *T. conoides* (Kasmiasi, 2018).



Gambar 1. Pulau Samalona Kec. Ujung Pandang Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan. Sumber: <https://www.arsytours.com/wpcontent/uploads/2020/01/Pulau-Samalona-jpg>.

B. Potensi Bioaktivitas Rumput Laut

Rumput laut merupakan salah satu organisme laut yang berperan dalam siklus rantai makanan sebagai produser primer. Berdasarkan pigmen (zat warna) yang dikandungnya, rumput laut dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis, yaitu: *Chlorophyceae* (ganggang hijau), *Rhodopyceae* (ganggang merah) dan *Phaeopyceae* (ganggang coklat). Untuk mempertahankan hidupnya rumput laut memproduksi senyawa primer dan sekunder.

Reskika (2011) mengatakan bahwa senyawa primer yang dihasilkan oleh makhluk hidup bersifat esensial bagi proses metabolisme sel seperti fikokoloid, vitamin, asam lemak tak jenuh (Unsaturated Fatty Acids - UFA) dan karbohidrat. Senyawa sekunder (metabolit sekunder) adalah senyawa metabolit yang tidak

essensial bagi pertumbuhan organisme tetap dapat digunakan untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan.

Kandungan metabolit primer seperti vitamin, mineral, serat, alginat, keraginan dan agar banyak dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik untuk pemeliharaan kulit. Selain kandungan primernya yang bernilai ekonomis, kandungan metabolit sekunder dari rumput laut berpotensi sebagai produser metabolit bioaktif yang beragam dengan aktivitas yang sangat luas sebagai antibakteri (Diachanty *et al.*, 2017; Ponnann *et al.*, 2017), antivirus (Idacahyati *et al.*, 2020), antijamur (Julyasih & Arika, 2019) dan toksisitas (Ponnann *et al.*, 2017). Makroalga merupakan sumber polisakarida bioaktif dari laut (Holdt & Kraan, 2011).

Rumput laut hijau, merah ataupun coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi pengembangan (1) industri farmasi sebagai anti bakteri, antitumor, anti kanker atau sebagai reversal agent dan (2) industri agrokimia terutama untuk antifeedant, fungisida dan herbisida (Bachtiar, 2007).

Banyak peneliti yang telah mempublikasikan hasil penelitian tentang potensi bioaktif dari rumput laut. Senyawa kimia yang terdapat pada rumput laut merah memiliki berbagai macam khasiat dan aktivitas seperti antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antivirus dan antikarsinogenik (Amaranggana & Nasrul, 2017; Kaimuddin & Amahoru, 2018). Rumput laut hijau sebagai antibakteri, antioksidan dan anti jamur (Tosiyah *et al.*, 2016). Rumput laut coklat sebagai antibakteri (Firmasyah *et al.*, 2016; Seulina *et al.*, 2018; Kereh *et al.*, 2018); antioksidan (Hidayati *et al.*, 2017; Diachanty *et al.*, 2017; Sanger *et al.*, 2018); anti jamur (Julyasih & Arika, 2019) dan antivirus (Idacahyati *et al.*, 2020).

C. *Turbinaria* sp.

Turbinaria sp. Tersebar hampir di seluruh perairan tropis termasuk Indonesia, pada daerah karang dengan pasang surut rendah dan area subtidal (Aslan, 1991; Atmadja *et al.*, 1996). *Turbinaria* sp. yang ditemukan di Indonesia ada 3 spesies, yaitu: *T. ornate*, *T. decurrens* dan *T. conoides* (Atmadja *et al.*, 1996).

Turbinaria mempunyai peranan yang sangat penting di dunia industri sebagai bahan baku alginat (Handayani, 2018). *Turbinaria* memiliki potensi yang dapat dikembangkan yakni sebagai sumber alginat, obat-obatan, bioindikator logam berat, sumber makanan dan pupuk (Ode & Jahra, 2014). Meskipun semua dari golongan alga coklat sama-sama menghasilkan alginat, namun *Turbinaria* sp. masih jarang dimanfaatkan oleh masyarakat (Tjitrosoepomo, 2005). *Turbinaria* sp. Mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid dan tanin (Syahrimin *et al.*, 2020).

Fukoidan umumnya ditemukan pada makroalga cokelat termasuk *Turbinaria*. Senyawa ini tidak dapat ditemukan pada makroalga lain maupun tumbuhan tingkat tinggi. Fukoidan memiliki bioaktivitas bagi kesehatan manusia, antara lain aktivitas antikoagulan (Chevolot *et al.*, 1999), antivirus (Li *et al.*, 1995; Iqbal *et al.*, 2000), antioksidan (Hu *et al.*, 2001), antitumor (Maruyama *et al.*, 2006; Verdrengh *et al.*, 2000) dan antikanker (Liu *et al.*, 2005). Fukoidan juga mendorong pemulihan fungsi kekebalan tubuh (Wu *et al.*, 2003). *Turbinaria* merupakan salah satu makroalga cokelat penghasil iodin (Atmadja, 1996; Ode & Wasahua, 2014). Iodin dimanfaatkan sebagai antiseptik, mencegah penyakit gondok, pengujian amilum di laboratorium, fotografi dan suplemen untuk ibu hamil (Lazarus, 2015).

1. *Turbinaria conoides*

Turbinaria conoides secara umum memiliki batang silindris, tegak, kasar dan terdapat bekas-bekas percabangan, memiliki holdfast (alat menempel) berupa cakram kecil dan terdapat perakaran yang menjalar ke segala arah (radial). Spesies ini memiliki percabangan berputar sekeliling batang utama dan daun berukuran kecil (diameter sekitar satu sentimeter). Ciri spesifik dari spesies ini adalah daun yang membentuk setengah bulatan melengkung seperti ginjal (reniformis) dengan pinggir daun bergerigi (Gambar 2). *T. conoides* memiliki gelembung udara yang terletak agak menonjol di pertengahan daun. Spesies ini dapat memiliki rumpun setinggi 75 cm (Atmadja, 1996). Tallus berwarna cokelat muda hingga cokelat tua (Mirza, 1966; Atmadja, 1996). Gelembung udara (vesicles) menempel pada daun. Organ reproduksi (receptacle) menempel pada tangkai ramuli dan membentuk rangkaian pada tangkai daun (Wei & Chin, 1983; Atmadja, 1996).

Hasil penelitian tentang bioaktif dari *T. conoides* yaitu mengandung alkaloid, flavonoid, fenol (Diachanty *et al.*, 2017; Nurjanah *et al.*, 2020), saponin, steroid dan triterpenoid (Diachanty *et al.*, 2017). Berdasarkan Guiry & Guiry (2018) sistematika dari *Turbinaria* adalah sebagai berikut:

Regnum : Plantae
Filum : Thallophyta
Divisi : Phaeophyta
Kelas : Phaeophyceae
Suku : Sargassaceae
Genus : *Turbinaria*
Spesies : *Turbinaria conoides*



Gambar 2. Rumput laut coklat *Turbinaria conoides* yang terdapat di perairan sekitar Pulau Samalona. Sumber: koleksi pribadi

D. Perkembangan Penelitian Rumput Laut Sebagai Antibakteri dan Antitumor

Sekitar 40-50% obat-obatan yang beredar di pasaran berasal dari produk kimia bahan alam. Bahkan 10 dari 25 *top* penjualan produk farmasi berasal dari bahan alam. Sebagian kimia bahan alam dari mikroorganisme, tumbuhan dan organisme laut. Keunikan bahan alam dari laut telah dikenal sejak abad ke-14 dalam pengobatan tradisional China dan Jepang. Penelitian bahan alam dari organisme laut khususnya rumput laut mulai berkembang di awal tahu 1960-an. Penemuan metabolit sekunder dari rumput laut dengan aktivitas biologi yang luas meningkat signifikan dalam dua dekade terakhir (Wang *et al.*, 2009).

Upaya pencarian bahan alami dari organisme laut menjadi topik yang banyak menarik perhatian para peneliti dan terus dilakukan hingga saat ini. Hal tersebut ditunjukkan dengan semakin meningkatnya kecenderungan manusia untuk menghindari pemakaian antibiotik sintetis. Alasan memilih bahan alami dari organisme laut sebagai antibakteri adalah adanya kandungan metabolit sekunder dari organisme laut yang tidak menimbulkan efek samping, bersifat *biodegradable* dan memiliki beragam bioaktivitas diantaranya antimikrobia dan antioksidan.

Penelitian tentang rumput laut sebagai antibakteri dan antitumor semakin berkembang. Salah satu jenis rumput laut coklat yaitu *Turbinaria conoides* dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Yanuarti *et al.*, 2017; Ponnann *et al.*, 2017); anti mikroba dan anti jamur (Diachanty *et al.*, 2017; Ponnann *et al.*, 2017) dan antikanker (Ward & Deyab, 2016; Ponnann *et al.*, 2017).

E. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses yang dilakukan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai dalam standar prosedur ekstraksi (ICS-UNID, 2008; Ditjen POM, 2000). Ekstraksi dibagi menjadi dua cara yaitu ekstraksi dengan cara dingin dan cara panas.

1. Ekstraksi dengan cara dingin

Ekstraksi cara dingin memiliki keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada senyawa termolabil yang terdapat pada sampel. Sebagian besar senyawa dapat terekstraksi dengan ekstraksi cara dingin, walaupun ada beberapa senyawa yang memiliki keterbatasan kelarutan terhadap pelarut pada suhu ruangan.

Terdapat sejumlah metode ekstraksi yang paling sederhana adalah ekstraksi dingin (dalam labu besar berisi biomasa yang diagitasi menggunakan stirer), dengan cara ini bahan kering hasil gilingan diekstraksi pada suhu kamar secara berturut-turut dengan pelarut yang kepolarannya makin tinggi. Keuntungan cara ini merupakan metode ekstraksi yang mudah karena ekstrak tidak dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alam menjadi terurai.

Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran bahan alam secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan - bahan alam berdasarkan kelarutannya dan polaritasnya dalam pelarut ekstraksi dapat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut ekstraksi pada suhu kamar (Heinrich, 2004). Ekstraksi dingin dapat dilakukan dengan dua metode yaitu, meserasi dan perkolasi.

1. 1 Meserasi

Meserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar (Depkes RI, 2000). Meserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi meserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan.

Meserasi berasal dari bahasa latin "Macerace" berarti merendam. Meserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Prinsip meserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut dari sel rusak yang terbentuk pada saat penghalusan dan ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Penyarian zat aktif dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari, pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Pada proses tersebut, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan

konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Selama maserasi atau proses perendaman, pengocokan/pengadukan dilakukan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, maka akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994). Meserasi kinetik berarti dilaksanakan pengulangan penambahan pelarut setelah dilaksanakan penyaringan meserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000). Kelebihan dari ekstraksi dengan metode maserasi adalah unit alat yang digunakan sederhana, biaya operasionalnya relatif rendah, prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan. Kelemahan dari ekstraksi dengan metode maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyaringan kurang sempurna.

1. 2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustiva extraction*) yang umumnya dilaksanakan pada temperatur ruangan. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1 - 5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

2. Ekstraksi dengan cara panas

Pada metode ini melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung. Suhu tinggi (panas) secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Beberapa jenis metode ekstraksi cara panas (Depkes RI, 2000), adalah: refluks yaitu ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik, sokletasi yaitu ekstraksi melalui proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam simplisia dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi, digesti adalah metode ekstraksi dengan pemanasan lemah yaitu pada suhu 40-50°C. Metode ini hanya dapat diterapkan pada simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan, infudasi yaitu ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur

penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96 - 98°C selama waktu tertentu (15 - 20 menit). Infudasi ini pada umumnya dilakukan untuk memperoleh suatu zat kandungan aktif yang telah larut di dalam air yang berasal dari bahan-bahan nabati, dekok yaitu ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit. Campuran simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci (wadah) dengan air secukupnya, panaskan di atas tangas air selama 30 menit terhitung mulai 90°C sambil sesekali diaduk (BPOM, 2010) dan destilasi uap yaitu ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara berkelanjutan sampai sempurna diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

F. Bakteri Patogen

Bakteri berasal dari kata latin *bacterium*; jamak: *bacteria* merupakan kelompok organisme yang tidak memiliki membran inti sel. Organisme ini termasuk ke dalam domain prokariota dan berukuran sangat kecil (mikroskopik). Bakteri dapat ditemukan di hampir semua tempat seperti: tanah; air; udara; dalam simbiosis dengan organisme lain; maupun sebagai agen parasit (patogen); bahkan dalam tubuh manusia. Beberapa kelompok bakteri dikenal sebagai agen penyebab infeksi dan penyakit, sedangkan kelompok lainnya dapat memberi manfaat di bidang pangan, pengobatan dan industri.

Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit disebut bakteri patogen. Bakteri tersebut dapat berasal dari kelompok bakteri Gram positif ataupun bakteri Gram negatif. Keberadaan bakteri sebagai parasit (patogen) inilah yang dapat menimbulkan infeksi dan penyakit pada inangnya. Beberapa bakteri Gram positif yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia yaitu: *Bacillus anthracis* (penyebab penyakit antrax), *Streptococcus* tipe A (penyebab penyakit demam reumatik), *Mycobacterium tuberculosis* (penyebab penyakit tuberkulosis) dan *Listeria monocytogenes* (penyebab penyakit meningitis), sedangkan bakteri Gram negatif yaitu: *Salmonella typhi* (penyebab penyakit demam tifoid), *Neisseria meningitidis* (penyebab penyakit meningitis), *Escherichia coli* (penyebab penyakit gastroenteritis), *Pseudomonas* sp. (penyebab infeksi luka bakar) dan *Vibrio* sp. (penyebab penyakit kolera) (Hogg, 2005).

Pada ikan, bakteri Gram positif juga dapat menimbulkan penyakit antara lain *Streptococcus agalactiae* (penyebab penyakit septisemia) (Gardenia *et al.*, 2011), *Corynebacterium* sp. (penyebab penyakit ginjal) (Nabib dan Pasaribu, 1989) dan *Listeria monocytogenes* (penyebabkan penyakit listeriosis) (Manurung & Darna, 2017).

Bakteri Gram negatif yang dapat menimbulkan penyakit pada ikan antara lain *Aeromonas hydrophila* (penyebab penyakit Motile Aeromonas Septisemia (MAS) (Rejeki *et al.*, 2016), *Pseudomonas anguilliseptica* (penyebab penyakit pseudomonadiasis “*Winter disease*”) (Toranzo *et al.*, 2005) dan *Vibrio* sp. (penyebab penyakit vibriosis) (Asplund, 2013).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik merupakan suatu yang alamiah. Namun, penggunaan antibiotik secara terus-menerus tanpa memperhatikan dosis akan mempercepat proses resistensi antibiotik tersebut. Bakteri akan membuat mekanisme pertahanan diri karena paparan yang terus-menerus oleh antibiotik. Bahaya resistensi antibiotika merupakan salah satu masalah yang dapat mengancam kesehatan masyarakat. Hampir semua jenis bakteri saat ini menjadi lebih kuat dan kurang responsif terhadap pengobatan antibiotika. Bakteri resisten antibiotik adalah bakteri yang tidak dapat terkontrol atau dibunuh oleh antibiotik dan tetap mampu bertahan dan berkembang biak. Kebanyakan bakteri penyebab infeksi dapat menjadi resisten terhadap beberapa antibiotik.

Mirza (2013) menyatakan bahwa bakteri dapat bersifat resisten terhadap antibiotik karena adanya mutasi kromosom ataupun karena pertukaran material genetik melalui transformasi, transduksi dan konjugasi melalui plasmid. Peningkatan atau kesalahan penggunaan antibiotik dalam bidang klinik, penggunaan antibiotik dalam bidang molekular dan penambahan antibiotik pada pakan ternak juga dapat menyebabkan bakteri bersifat resisten terhadap antibiotik.

Hasil penelitian menunjukkan persentase resistensi bakteri terhadap antibiotik seperti bakteri patogen pada manusia yaitu *Escherichia coli* resisten terhadap penisilin 100%, amoksisilin 100%, streptomisin 70%, trimetoprim-sulfametoksazol 60%, dan tetrasiklin 30% (Normaliska *et al.*, 2019), *Salmonella typhi* resisten sebesar $\geq 50\%$ terhadap Sulfamethoxazole (Rahman, 2019) dan *Pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap metronidazol 100%, sefaleksin 100%, sefuroksim 100%, oksasilin 100% dan sefadroksil 100% (Nurmala *et al.*, 2015); ceftazidime (27,4%), gentamicin (24,1%), imipenem (14%), meropenem (11,7%), dan amikacin (4,9%) (Febian *et al.*, 2020). Bakteri patogen pada ikan yaitu *Aeromonas hydrophila* menunjukkan resisten terhadap antibiotik novobiosin 30 μg (Andre dan Josh, 2016; Muslikha *et al.*, 2016) dan bakteri *Vibrio harveyi* resisten terhadap antibiotik eritromisin, enrofoloksasin dan oksitetrasiklin dengan dosis 35 μg (Apriliani *et al.*, 2016). Sifat resistensi terhadap bakteri membuat para ilmuwan berupaya menemukan obat baru (Alamsyah *et al.*, 2014).

1. *Aeromonas hydrophila*

Bakteri ini merupakan *pathogen* pada manusia dan hewan khususnya ikan (Manik *et al*, 2014). *A. hydrophila* (Gambar 3) adalah bakteri oportunistik, gram negatif yang banyak ditemukan di perairan dan dapat menyebabkan kematian ikan dalam waktu yang sangat singkat hingga mencapai 80 - 100 % (Lukistyowati dan Kurniasih, 2012). *A. hydrophila* menyebabkan penyakit Motile Aeromonas Septiemia (MAS) yang menyerang beberapa organ dalam seperti hati, limpa dan ginjal. *A. hydrophila* dikenal juga sebagai bakteri patogen serius pada ikan lele (Sarkar and Rashid, 2012).



Gambar 3. Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sumber: <https://www.google.com/search?q=vibrio+harveyi>

2. *Escherichia coli*

Escherichia coli (Gambar 4) adalah salah satu jenis species utama bakteri gram negatif. *E. coli* dalam jumlah yang berlebihan dapat mengakibatkan diare dan bila bakteri ini menjalar ke sistem/organ tubuh yang lain dapat menyebabkan infeksi. Jika bakteri *E. coli* sampai masuk ke saluran kencing maka akan mengakibatkan infeksi pada saluran kemih/kencing (ISK). *E. coli* tidak dapat dibunuh dengan pendinginan maupun pembekuan, tetapi hanya bisa dibunuh oleh antibiotik, sinar Ultraviolet (UV) atau suhu tinggi $>100^{\circ}\text{C}$. Suhu tinggi akan merusak protein dalam sel dan membuatnya tidak dapat hidup kembali. *E.coli* yang tidak direkayasa genetika (wild type) umumnya tidak dapat hidup jika ada antibiotik seperti ampicillin dan kloramfenikol (Girard *et al.*, 2003) walaupun dengan antibiotik seperti Amoxicillin pun sudah cukup (derivat dari ampicillin yang lebih rendah daya bunuhnya).



Gambar 4. Bakteri *Escherichia coli*. Sumber:<https://www.google.com/search?q=escherichia+coli>

3. *Pseudomonas aeruginosa*

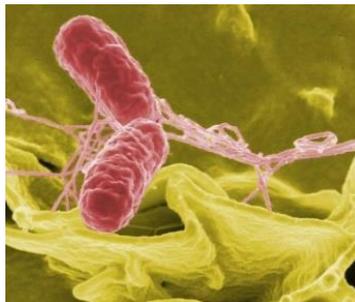
Pseudomonas aeruginosa (Gambar 5) merupakan bakteri gram negatif yang bersifat oportunistik, yaitu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada penderita apabila sistem kekebalannya menurun. Apabila mikroorganisme berada di dalam inang yang sistem kekebalannya telah terganggu dapat melintasi penghalang anatomi setelah luka bakar, pembedahan dan terbawa masuk melalui kateter, alat penyuntik dan respirator yang terkontaminasi (Mayasari, 2005).



Gambar 5. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sumber: <https://www.google.com/search?q=pseudomonas+aeruginosa>

4. *Salmonella typhi*

Salmonella typhi (Gambar 6) adalah bakteri gram negatif yang tergolong dalam suku Enterobacteriaceae. Pada umumnya bakteri Salmonella ini bersifat patogen karena dapat menyebabkan penyakit pada manusia, hewan piaraan atau ternak dan hewan air seperti ikan, udang dan kerrangkerangan (Kunarso, 1987). Secara umum, organisme yang berasal dari genus Salmonella merupakan sumber penyebab berbagai macam infeksi, mulai dari gastroenteritis ringan sampai berat seperti demam tifoid dan bakteremia.



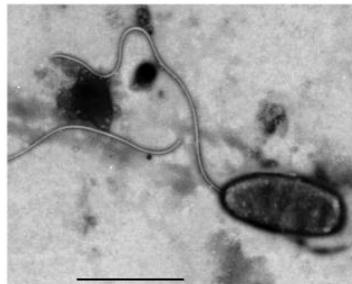
Gambar 6. Bakteri *Salmonella typhi*. Sumber: <https://www.google.com/search?q=Salmonella+typhi>

5. *Vibrio harveyi*

Bakteri *Vibrio harveyi* (Gambar 7) adalah bakteri yang berasal dari air laut dan merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif dan kemoorganotrof. Bakteri ini dapat menyerang udang -udangan, utamanya udang windu (*P. monodon*) pada tahap larva hingga dewasa. Udang windu yang terserang

menunjukkan gejala pergerakan yang lambat, terdapat perluasan bintik merah pada kaki jalan dan kaki renang, serta bintik hitam pada bagian nsang.

Penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi* mempunyai sifat menyerang yang ganas. Hal ini karena bakteri *V. harveyi* dilengkapi dengan flagel dan mampu tumbuh pada kondisi yang ekstrim. Sehingga seringkali menjangkiti berbagai jenis ikan dan udang utamanya udang windu. Tidak hanya menyebabkan penyakit vibriosis, bakteri ini juga dapat menyebabkan penyakit udang dan pengrusakan sirip pada ikan (Kordi, 2011). Bakteri *V. harveyi* yang berasal dari laut ini memiliki ciri khusus yang bercahaya pada kondisi gelap sehingga mudah dikenali diperairan



tambak.

Gambar 7. Bakteri *Vibrio harveyi*. Sumber: <https://www.google.com/search?q=vibrio+harveyi>

G. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan dapat mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme atau menekan *system* reproduksi bakteri yang bersifat merugikan. Antibakteri biasanya dijabarkan sebagai suatu zat yang digunakan untuk membersihkan permukaan dan menghilangkan bakteri yang berpotensi membahayakan (Volk & Wheeler, 1993). Antibakteri juga diartikan sebagai jenis bahan tambahan yang digunakan untuk mencegah kebusukan atau keracunan oleh organisme pada bahan pangan.

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Dwidjoseputro, 1980). Beberapa jenis senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri adalah sodium benzoat, senyawa fenol, asam-asam organik, asam lemak rantai medium dan esternya, sulfur dioksida dan sulfit, nitri, senyawa kolagen dan surfaktan, dimetil karbonat dan metil askorbat. Salah satu zat antibakteri yang banyak digunakan adalah antibiotik.

Antibiotik adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan oleh organisme hidup termasuk struktur analognya yang dibuat secara sintetik yang dalam kadar rendah

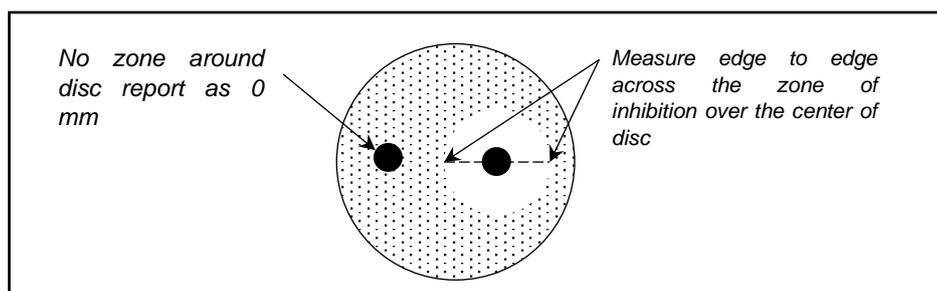
mampu menghambat proses penting dalam kehidupan suatu spesies atau lebih organisme (Siswando & Soekardjo, 1995). Namun penggunaan antibiotik kini semakin membuat bakteri resisten dikarenakan penggunaan antibiotik yang meluas dan irasional. Oleh karena itu, diperlukan pencarian zat antibakteri baru dan alami. Antibakteri alami baik dari produk hewani, tanaman maupun mikroorganisme misalnya bakteriosin (Luthana, 2008). Untuk mengetahui kemampuan suatu bahan sebagai antibakteri, maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terlebih dahulu.

1. Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri merupakan teknik untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri. Secara umum dikenal 3 metode utama untuk uji antimikroba yaitu difusi agar, dilusi dan bioautografi Brock dan Madigan (Rante, 2010). Metode difusi agar (Bauer *at al.* 1996) digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba atau sering juga dinamakan uji daya hambat. Metode ini dilaksanakan dengan bahan uji yang telah dilarutkan dalam pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam sumuran atau diteteskan pada *paper disc*. Kemudian ditanam dalam medium padat yang telah berisi mikroba uji. Setelah inkubasi, diamati adanya zona bening atau halo di sekitar sumuran atau *paper disc*. Zona bening merupakan tanda dari kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte, 2005) dan zona halo merupakan suatu respon mikroba untuk menanggapi lingkungan yang terkontaminasi suatu bahan antibakteri yang ditandai dengan adanya hambatan pertumbuhan di sekitar bahan antibakteri (Pelezar, 1986).

2. Pengukuran zona hambat

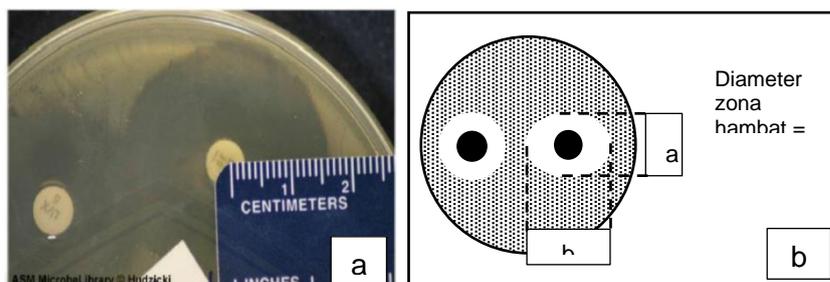
Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong (*caliper*). Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat dari tepi ke tepi zona hambat, termasuk diameter *paper disc* (Hudzicki, 2016). Bila tidak terdapat zona hambat atau zona hambat yang terbentuk diameternya sama dengan diameter *paper disc* maka diameternya akan bernilai 0 mm (Gambar 8).



Gambar 8. Pengukuran zona hambat bakteri menggunakan jangka sorong. Sumber:

Hudzicki, 2016

Pengukuran zona hambat yang saling bertumpuk (*overlap*) dilakukan dengan mengukur radius zona hambat yaitu, mengukur dari tengah *paper disc* ke tepi zona hambat yang terlihat jelas. Hasil pengukuran tersebut kemudian dikalikan 2 untuk mengetahui diameter zona hambat yang sebenarnya (Hudzicki, 2016). Zona hambat yang berbentuk lonjong diukur pada diameter zona hambat yang panjang dan diameter yang pendek kemudian dijumlah dan dibagi dua (Majidah, 2014) (Gambar 9).



Gambar 9. Pengukuran zona hambat bakteri (a) Zona hambat *overlap*, (b) Zona hambat berbentuk lonjong. Sumber: Hudzicki, 2016

Menurut Davis & Stout (1971), kemampuan suatu bahan dalam menghambat bakteri uji ditandai dengan terbentuknya zona bening atau halo disekitar cakram uji dan dievaluasi dengan kriteria 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*). Zona bening menunjukkan bahwa zat antibakteri bersifat bakteriosidal (mampu membunuh bakteri), sedangkan zona halo menunjukkan zat antibakteri bersifat bakteristatis (mampu menghambat pertumbuhan bakteri) (Medigan, 2000). Zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal, bakteri statis dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri) (Tahar, 2017).

H. Toksisitas

Toksisitas adalah tingkat merusaknya suatu zat jika dipaparkan terhadap organisme. Toksisitas dapat mengacu pada dampak terhadap seluruh organisme seperti hewan, bakteri atau tumbuhan dan efek terhadap substruktur organisme, seperti sel (sitotoksisitas) atau organ tubuh seperti hati. Terdapat empat metode pengujian sitotoksisitas yang dikembangkan untuk pencarian produk alam yang potensial sebagai bahan antikanker yaitu, "Brine Shrimp Lethality Test", "Lemna Minor Bioassay", "Crown-Gall Potato Disk Bioassay" dan pengujian pada pembelahan sel telur bulu babi (Laughli *et al.*, 1991).

Di dalam toksisitas terdapat taraf toksisitas. Taraf toksisitas ini dapat digunakan untuk menilai kekuatan suatu racun yang sedang diujicoba pada berbagai organisme. Ada 2 uji toksisitas yaitu, LD₅₀ (*Lethal Dose*) dan uji LC₅₀ (*Lethal Concentration*). Uji LD₅₀ adalah suatu pengujian untuk menetapkan potensi toksisitas akut, menilai berbagai gejala toksik, spektrum efek toksik dan mekanisme kematian. Tujuannya adalah untuk mendeteksi adanya toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaannya; memperoleh data bahayanya setelah pemberian suatu senyawa dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang diperlukan (Ibrahin *et al*, 2012). Uji LC₅₀ adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan setengah dari populasi (50%) yang ada (Setianti, 2009).

Uji toksisitas secara kuantitatif dapat ditinjau dari lamanya waktu, yang dapat diklasifikasikan menjadi toksisitas akut, sub akut, dan kronis. Toksisitas akut adalah efek total yang didapat pada dosis tunggal dalam 24 jam setelah pemaparan. Toksisitas akut bersifat mendadak, waktu singkat dan biasanya reversibel. Uji toksisitas atas dosis dan waktu spesifik toksisitas akut. Besar kecilnya dosis menentukan efek secara biologi (BPOM, 2000; Verma, 2008).

Faktor-faktor yang memengaruhi toksisitas yaitu komposisi dan jenis toksikan, konsentrasi toksikan, durasi dan frekuensi pemaparan, sifat lingkungan dan spesies biota penerima. Toksikan adalah zat yang dapat menghasilkan efek negatif bagi semua atau sebagian dari organisme biologis (populasi, individu, organ, jaringan, sel, biolekul) dalam bentuk merusak struktur maupun fungsi biologis. Efek tersebut dapat bersifat reversibel atau irreversibel (Halang, 2004).

1. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Menurut Meyer (1982), *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu bioassay yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan coba. Uji toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat yaitu rentang waktu 24 jam setelah pemberian dosis uji. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika nilai LC₅₀ < 1000 µg/mL (Meyer, 1982).

Pemikiran bahwa efek farmakologi adalah toksikologi sederhana pada dosis yang rendah dan sebagian besar senyawa anti tumor adalah sitotoksik, maka digunakan "*Brine Shrimp Lethality Test*". Akan tetapi pengujian lethalitas yang sederhana tidak spesifik untuk anti tumor, tetapi merupakan indikator sitotoksitas

yang baik dengan pengujian anti tumor lainnya, seperti uji leukemia tikus. Prosedur ini menentukan nilai LC₅₀ dalam µg/mL dari ekstrak dan senyawa aktif dalam medium air asin. Aktivitas yang luas dari senyawa aktif diketahui terhadap udang, akan tetapi prosedur yang sederhana, biaya yang rendah dan korelasinya terhadap pengujian sitotoksitas dan pengujian anti tumor membuat pengujian ini sebagai uji pendahuluan untuk aktivitas anti tumor yang sesuai dan dapat dilakukan secara rutin di laboratorium dengan fasilitas sederhana (Meyer, 1982).

2. **Lethal Concentration 50 (LC₅₀)**

LC₅₀ (*Median Lethal Concentration*) yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50% dari organisme uji yang dapat diestimasi dengan grafik dan perhitungan pada suatu waktu pengamatan tertentu, misalnya LC₅₀ 24 jam, LC₅₀ 48 jam, LC₅₀ 96 jam (Dhahiyat & Djuangsih, 1997) sampai waktu hidup hewan uji.

LC₅₀ digunakan untuk perlakuan secara inhalasi atau percobaan toksisitas dalam media air (Klaassen, 1986). Pengujian efek toksik dengan larva *Artemia salina*, dihitung dengan metode LC₅₀ yang mana kematian setelah 6 jam pemaparan dimasukkan kedalam kategori LC₅₀ akut dan pemaparan setelah 24 jam digolongkan LC₅₀ kronis. Akan tetapi dalam pengerjaannya biasanya digunakan perhitungan LC₅₀ setelah 24 jam mengingat ekstrak yang sukar larut membutuhkan waktu yang lebih panjang. Penunjukan efek toksik yang dihasilkan memberikan indikasi terganggunya proses pembentukan sel. Dalam hal ini diasumsikan sebagai sel kanker (Anderson et.al., 1991). Efek toksisitas dilihat dari hasil pengamatan dengan persen kematian menggunakan rumus:

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah Larva Mati}}{\text{Jumlah Larva Uji}} \times 100$$

Bila terdapat larva yang mati pada kontrol, maka presentase kematian ditentukan dengan rumus abbot (Meyer *et al.*, 1982).

$$\% \text{Kematian Larva} = \frac{T - K}{10} \times 100$$

Keterangan:

T = Jumlah larva uji yang mati

K = Jumlah larva kontrol yang mati

10 = Jumlah larva uji

Penentuan LC₅₀ dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan grafik probit log konsentrasi, metode grafik dan perhitungan secara matematik.

Penentuan metode grafik probit konsentrasi dilakukan dengan menempatkan persentase respons dari tiap kelompok hewan pada ordinat dan *logarithma* dosis obat yang diberikan secara absis (Loomis, 1978). Setelah mengetahui kematian larva *A. salina*, dilakukan perhitungan dengan menggunakan persamaan regresi linier dengan *Microsoft Office Excel* 2010 :

$$y = a + bx$$

Keterangan:

y = Log konsentrasi

x = angka probit

Nilai persamaan regresi yang diperoleh dari perbandingan log konsentrasi dan nilai probit kematian larva uji kemudian disubstitusikan dengan nilai probit 5,00 yang mewakili 50% kematian hewan uji sebagai y untuk mencari nilai x. Selanjutnya, nilai x diubah ke dalam bentuk antilogaritma sehingga nilai LC₅₀ didapatkan. Tingkat ketoksikan suatu bahan alam menurut Anderson (1991) terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai tingkat toksisitas LC₅₀ (Anderson, 1991)

Nilai LC ₅₀ (µg/mL)	Tingkat Toksisitas
<250	Sangat Toksik
250-500	Toksik
500-750	Sedang
750-1000	Tidak Toksik

3. *Artemia salina*

A. salina atau sering disebut *brine shrimp* adalah sejenis udang-udangan primitif yang sudah dikenal cukup lama dan oleh Linnaeus pada tahun 1778 diberi nama *Cancer salinus*, kemudian oleh Leach diubah menjadi *A. salina* pada tahun 1819. Hewan ini hidup planktonik di perairan yang berkadar garam tinggi antara 15-300 per mil, suhu berkisar antara 25 - 30°C, oksigen terlarut sekitar 3 mg/L dan pH antara 7,3 – 8,4. Sebagai plankton, *A. salina* tidak dapat mempertahankan diri terhadap musuh-musuhnya karena tidak mempunyai cara maupun alat untuk mempertahankan diri. Satu-satunya kondisi yang menguntungkan dari alam adalah lingkungan hidup yang berkadar garam tinggi, karena pada kondisi tersebut pemangsanya pada umumnya sudah tidak dapat hidup lagi (Mudjiman, 1995).

A. salina merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaan sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan. Selain itu *A. salina* juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007). *A. salina* sering digunakan dalam uji coba toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality* (BSLT). Bila bahan

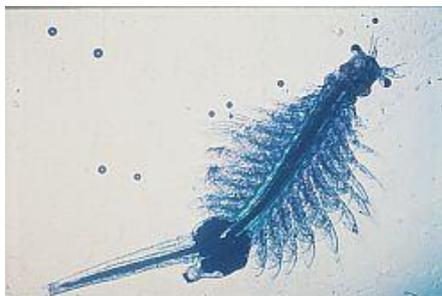
yang diujikan memberikan efek toksik terhadap larva *A. salina* maka hal ini menjadi indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut.

Keunggulan penggunaan larva *A. salina* untuk uji BSLT ini ialah sifatnya yang peka terhadap bahan uji, waktu siklus hidup yang lebih cepat, mudah dibiakkan dan harganya yang murah. Sifat peka *A. salina* kemungkinan disebabkan oleh keadaan membran kulitnya yang sangat tipis sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat dari lingkungan yang mempengaruhi metabolisme dalam tubuhnya. *A. salina* ditemukan hampir pada seluruh permukaan perairan di bumi yang memiliki kisaran salinitas 1000 – 2000 ppm, hal inilah yang menyebabkannya mudah dibiakkan.

Telur yang baru saja menetas berbentuk bulat lonjong dan berwarna kemerah merahan dengan panjang 400 μm dengan berat 15 μg . Anggota badannya terdiri dari sepasang sungut kecil (anteluena atau antena I) dan sepasang sungut besar (antena atau antena II). Di bagian depan di antara kedua sungut kecil tersebut terdapat bintik merah yang berfungsi sebagai mata (oselus). Di belakang sungut besarnya terdapat sepasang mandibula (rahang) yang kecil, sedangkan di bagian perut (*ventral*) sebelah depan terdapat labrum (Mudjiman, 1988).

Klasifikasi *A. salina* (Gambar 10) menurut Mudjiman (1995) yaitu:

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Class : Crustacea
Subclass : Branchiopoda
Ordo : Anostraca
Family : Artemiidae
Genus : *Artemia*
Spesies : *A. Salina*



Gambar 10. *Artemia salina* yang dilihat dari *mikroskop*. Sumber: <https://www.google.com/search?q=artemia+salina>

I. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa hasil biosintetik yang sebagian diantaranya merupakan turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun dari serangan

organisme lain (Hardyanti, 2011; Opa et al., 2018). Salah satu organisme yang mengandung metabolit sekunder adalah rumput laut. Kandungan metabolit sekunder dari rumput laut berpotensi sebagai sumber metabolit bioaktif (senyawa aktif) yang beragam dengan aktivitas yang sangat luas sebagai antibakteri (Diachanty *et al.*, 2017; Ponnannan *et al.*, 2017), antivirus (Idacahyati *et al.*, 2020), antijamur (Julyasih & Arika, 2019) dan toksisitas (Ponnannan *et al.*, 2017).

Senyawa aktif yang terkandung dalam rumput laut dapat diketahui melalui uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan analisis yang dilakukan untuk melihat ragam senyawa organik yang dihasilkan oleh makhluk hidup meliputi struktur kimia, biosintesis, perubahan serta metabolismenya, penyebaran alamiah dan fungsi biologisnya. Dalam melakukan uji fitokimia pemilihan pelarut perlu diperhatikan untuk mendapatkan zat kimia tertentu yang diinginkan. Senyawa aktif yang dapat menjadi agen antibakteri yaitu steroid, saponin dan triterpenoid (Nimah *et al.*, 2012). Golongan senyawa aktif pada organisme antara lain:

1. Flavonoid

Senyawa flavonoid bersifat lipofilik yang mengandung suatu senyawa fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel. Flavonoid merupakan senyawa polar yang dapat larut pada pelarut polar. Struktur flavonoid terdiri dari struktur fenol, satu gugus karbonil, fenol terhidroksilasi, C6-C3 terhubung ke cincin aromatik.

Flavonoid menjadi agen antioksidan karena mampu menekan pembentukan spesies oksigen reaktif dengan cara menghambat kerja enzim maupun dengan mengikat logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas (Astawan & Andreas, 2008; Handayani, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Setyaningsih (2010) menunjukkan bahwa penambahan logam Mg dan HCL akan membentuk garam flavillium yang berwarna merah ataupun jingga hingga kuning mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut memiliki senyawa flavonoid (Iffah, 2018).

2. Tanin

Tanin tersusun atas struktur fenol polimer (MW. 500 - 3000) sebagai antimikroba. Mekanismenya yaitu dengan mengikat adhesin, penghambatan enzim, perampasan substrat, kompleksasi dengan dinding sel dan gangguan membrane (Tiwari *et al.*, 2011). Komponen fenolat dapat larut dalam air selama komponen ini berikatan dengan gula membentuk glikosida. Pada tumbuhan senyawa ini umumnya terdapat pada vakuola sel.

3. Alkaloid

Alkaloid merupakan sumber nitrogen yang dipercaya terbentuk dari hasil metabolisme. Alkaloid memiliki struktur senyawa nitrogen heterosiklik protein (Tiwari *et al.*, 2011). Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Alkaloid metabolit sekunder yang merupakan turunan asam amino dan dalam kerangkanya memiliki atom N (Iffah, 2018). Alkaloid mampu larut pada pelarut organik (nonpolar) sedangkan beberapa kelompok pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air (polar) (Lenny & Cut, 2005).

Untuk mengidentifikasi adanya senyawa alkaloid dalam suatu bahan alam dapat menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomercurat) yang mampu mengendapkan hampir semua alkaloid, pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodide), asam silikotungstat 5%, asam tanat 5%, pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) dan iodoplatinat (Ulfa, 2014). Apabila ekstrak mengandung alkaloid maka akan terbentuk warna yang sesuai dengan pereaksinya. Pereaksi Mayer akan menghasilkan endapan putih, Dragendorff akan menghasilkan warna jingga sedangkan pereaksi Wagner akan menghasilkan endapan coklat (Ulfa, 2014).

4. Steroid/Triterpenoid

Steroid/triterpenoid merupakan senyawa yang berstruktur siklik, dapat berupa alkohol, aldehida ataupun asam karboksilat. Keberadaan triterpenoid ini dapat diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard dengan hasil positif apabila terbentuk warna biru-hijau pada sampel (Handayani, 2013).

5. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa. Saponin termasuk golongan triterpenoid yang mempunyai kerangka karbon berdasarkan isoprena. Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal dan sering mempunyai titik lebur tinggi (Harborne, 1987). Saponin memiliki rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan air, menghemolisis eritrosit, merupakan racun yang kuat untuk ikan dan amfibi, membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan steroid lain, sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi dan memiliki berat molekul yang tinggi (Iffah, 2018).