

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK N-HEKSANA ALGA COKLAT
(*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**



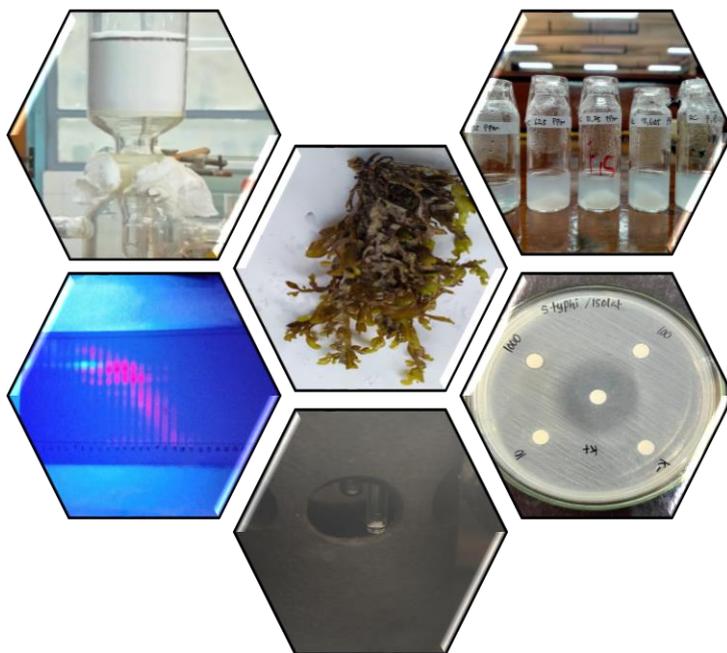
ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH

H031191025



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK N-HEKSANA ALGA COKLAT
(*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**



ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH

H031191025



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK N-HEKSANA ALGA COKLAT
(*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKIVITASNYA SEBAGAI
ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**

ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH

H031191025



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK N-HEKSANA ALGA COKLAT
(*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**

ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH
H031191025

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK N-HEKSANA ALGA COKLAT (*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI

ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH
H031191025

Skripsi

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Sains pada tanggal November 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS
NIP. 196012151987022001

Pembimbing Pertama,



Dr. Herlina Rasyid, S.Si
NIP. 199304142022044001

Mengetahui:

Ketua Program Studi,



Dr. St. Fauziah, M.Si
NIP. 19720202 199903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Isolasi Senyawa Kimia dari Ekstrak *n*-Heksana Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) serta Uji Bioaktivitasnya sebagai Antibakteri dan Antiinflamasi" adalah benar karya saya dengan arahan dari Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS sebagai pembimbing Utama dan Dr. Herlina Rasyid, S.Si sebagai Pembimbing Pertama. 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.



Kassar, November 2024

ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH
H031191025

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim...

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulisan skripsi sebagai syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin dengan judul "**Isolasi Senyawa Kimia dari Ekstrak *n*-Heksana Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) serta Uji Bioaktivitasnya sebagai Antibakteri dan Antiinflamasi**" dapat terselesaikan dengan baik. Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS** dan **Dr. Herlina Rasyid, S.Si** selaku dosen pembimbing yang dengan sabar memberi arahan dan motivasi dalam proses penyusunan tugas akhir ini. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada Ibu **Dr. st. Fauziah, M.Si** dan Ibu **Bulkis Musa, M.Sc** selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak ilmu dan masukan selama proses penyusunan tugas akhir ini. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada:

1. Orang tua tercinta Bapak **Nurdin Halim Sufyani** dan Ibu **Suratmi Ratnawati**, yang telah membesarkan dan mendidik penulis dengan penuh kasih sayang serta selalu memberikan dukungan dan doa tulus di setiap perjalanan hidup penulis.
2. Ketua dan Sekretaris Departemen Kimia Ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si** dan Ibu **Dr. Nur Umriani Permatasari, S.Si., M.Si** serta seluruh dosen, staf, dan pegawai atas bimbingan dan bantuan yang diberikan selama proses perkuliahan berlangsung.
3. Kepala Laboratorium Kimia Organik Bapak **Drs. Fredryk Welliam Mandey, M.Sc** yang telah memberikan izin pemakaian laboratorium sebagai tempat terlaksananya penelitian dan Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) Kimia Organik Ibu **Kartini, S.P** yang telah banyak membantu penulis selama penelitian berlangsung.
4. Adik Penulis **Harum Indah Prameswari** dan **Saripah Laksmi Tribuana Maharahi Al-Qadri** yang senantiasa mendukung dan menghibur penulis.
5. Sahabat terbaik penulis **Nisa Nur Rofifah, Pupun Ayu Raswati, Agis Revolina, Nurwiati, Fachira Rahmatullah Rahadian, Nabilla Jovanka Putri, Devi Nurmalasari**, dan **Rachmalia Putri** yang selalu mendengarkan keluh kesah serta memberikan dukungan, waktu dan motivasi kepada penulis.
6. Teman-teman penulis **Annisa Rifdah Maghfira, Indah Muthmainnah Monoarfa, Urifatun'nisa, Rusmiah, Sri Helmi, Wanda Wardiyanti** dan semuanya yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang selalu kebersamaan dan membantu penulis selama masa perkuliahan berlangsung.
7. Sepupu penulis **Linda Anjarwati** dan **Salma Nur'aisy Azkia** yang senantiasa memberi dukungan dan motivasi dalam pengerjaan tugas akhir ini.
8. Peneliti Organik kakak **Bahrin, Salman Amir, Nur Fatin Rafidah, Maghfiratul Wahdaniyah, Agung Dwianto, Asmirah, Nurul Amalia, Risma Majdiyah, Ibu Sernita, Ibu Khadijah** dan **Adik Peneliti Isolasi** yang selalu membantu dalam proses penelitian dari awal hingga akhir.

9. Teman-teman **KKN Gel. 108 Posko Siawung** yang selalu memberi dukungan dan merayakan apapun di segala momen.
10. **Kim Namjoon, Kim Seokjin, Min Yoongi, Jung Hoseok, Park Jimin, Kim Taehyung,** dan **Jeon Jungkook** yang selalu memberi semangat dalam penyusunan skripsi ini serta motivasi untuk tidak menyerah.
11. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas bantuan dan dukungan kepada penulis.
12. Terutama kepada diriku sendiri **Alfiyah Nur'ani Musyahadah** yang sudah berhasil bertahan hingga akhir dan berproses dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kesalahan karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan segala bentuk masukan serta kritik dari berbagai pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga karya tulis ini dapat bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Penulis,

Alfiyah Nur'ani Musyahadah

ABSTRAK

ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH. **Isolasi Senyawa Kimia dari Ekstrak *n*-Heksana Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) serta Uji Bioaktivitasnya sebagai Antibakteri dan Antiinflamasi** (dibimbing oleh Nunuk Hariani Soekamto dan Herlina Rasyid).

Latar Belakang. *Sargassum* merupakan salah satu genus dari alga coklat. Ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari ekstrak *Sargassum polycystum* memiliki aktivitas pengobatan terhadap berbagai jenis penyakit salah satunya sebagai antibakteri dan antiinflamasi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui golongan senyawa senyawa kimia dari ekstrak *n*-heksana alga coklat (*Sargassum polycystum*) serta menguji bioaktivitasnya sebagai antibakteri dan antiinflamasi. **Metode.** Ekstraksi *Sargassum polycystum* dilakukan dengan metode maserasi bertingkat kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan kromatografi kolom kemudian dilakukan rekristalisasi untuk isolat kotor yang diperoleh. Uji kemurnian dilakukan dengan KLT dan *melting point*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Uji aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan metode denaturasi protein BSA menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa hasil isolasi dianalisis menggunakan Uji Fitokimia dan FTIR. **Hasil.** Persen rendemen ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum*, yaitu 0,13%. Hasil uji fitokimia ekstrak *n*-heksana terdapat kandungan golongan senyawa alkaloid dan steroid. Senyawa hasil isolasi yang diperoleh memiliki titik leleh sebesar 130-132°C. Berdasarkan uji fitokimia dan analisis FT-IR menunjukkan senyawa hasil isolasi masuk dalam golongan senyawa steroid. Ekstrak *n*-heksana dan isolat 3C2 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* kategori sedang dengan zona hambat terbesar sekitar 7,01 mm untuk ekstrak dan 7,30 mm untuk isolat 3C2. Uji aktivitas antiinflamasi ekstrak *n*-heksana dan isolat 3C2 memiliki nilai IC₅₀ 631,95 mg/L dan 83,92 mg/L. **Kesimpulan.** Ekstrak *n*-heksana dan isolat 3C2 memiliki aktivitas antibakteri dan antiinflamsi, dimana isolat 3C2 memiliki aktivitas lebih besar daripada ekstrak *n*-heksana.

Kata kunci: antibakteri; antiinflamasi; denaturasi protein; difusi cakram; *Sargassum polycystum*

ABSTRACT

ALFIYAH NUR'AINI MUSYAHADAH. **Isolation of Chemical Compounds from n-Hexane Extract of *Brown Algae (Sargassum polycystum)* and its Bioactivity Test as Antibacterial and Anti-Inflammatory** (supervised by Nunuk Hariani Soekamto and Herlina Rasyid).

Background. *Sargassum* is a genus of brown algae. Extracts and compounds isolated from *Sargassum polycystum* extract have medicinal activities against various types of diseases, one of which is antibacterial and anti-inflammatory. **Aims.** This study aims to isolate and determine the chemical compound class from n-hexane extract of brown algae (*Sargassum polycystum*) and test its bioactivity as antibacterial and anti-inflammatory. **Method.** The extraction of *Sargassum polycystum* was carried out by the cascade maceration method then continued by fractionation using column chromatography then recrystallization was carried out for the dirty isolate obtained. Purity tests are carried out with KLT and *melting points*. The antibacterial activity test was carried out by the disc diffusion method. The anti-inflammatory activity test was carried out by the BSA protein denaturation method using a UV-Vis spectrophotometer. The isolated compounds were analyzed using Phytochemical and FTIR Tests. **Result.** The yields of n-hexane extract *Sargassum polycystum* was 0.13%. The results of the phytochemical test of n-hexane extract contains alkaloid and steroid compounds. The isolated compound obtained has a melting point of 130-132°C. Based on phytochemical tests and FT-IR analysis, it shows that the isolated compounds are included in the group of steroid compounds. N-hexane extract and 3C2 isolate had antibacterial activity against *Salmonella typhi* bacteria in the medium category with the largest inhibition zone of about 7.01 mm for the extract and 7.30 mm for 3C2 isolate. The anti-inflammatory activity test of n-hexane extract and 3C2 isolate had IC₅₀ values of 631.95 mg/L and 83.92 mg/L. **Conclusin.** N-hexane extract and 3C2 isolate have antibacterial and anti-inflammatory activities, where 3C2 isolate has greater activity than n-hexane extract.

Keywords: *antibacterial; anti-inflammatory; disc diffusion; protein denaturation; Sargassum polycystum*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGANTAR	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Penelitian	3
1.3.2 Manfaat Penelitian	3
BAB II Metode Penelitian	4
2.1 Bahan Penelitian	4
2.2 Alat Penelitian	4
2.3 Waktu dan Tempat Penelitian	4
2.4 Prosedur Penelitian	5
BAB III Hasil dan Pembahasan	10
3.1 Preparasi Sampel	10
3.2 Ekstraksi dan identifikasi Senyawa	10
3.3 Fraksinasi dan Pemurnian Senyawa	11
3.4 Karakterisasi Senyawa	16
3.5 Aktivitas Antibakteri	18
3.6 Aktivitas Antiinflamasi	20
BAB IV KESIMPULAN	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Hasil uji fitokimia ekstrak <i>n</i> -heksana <i>Sargasssum polycystum</i>	11
2.	Fraksi gabungan hasil KKV ekstrak <i>n</i> -heksana <i>Sargasssum polycystum</i> ...	13
3.	Fraksi gabungan dari fraksi III	15
4.	Fraksi gabungan dari fraksi 3C.....	16
5.	Hasil uji fitokimia isolat 3C2	17
6.	Interpretasi pita serapan FT-IR isolat 3C2 dan perbandingan referensi	18
7.	Diameter zona hambat ekstrak <i>n</i> -heksana dan isolat 3C2	19
8.	Aktivitas antiinflamasi	20

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. <i>Sargassum polycystum</i> kering (a) dan simplisia <i>Sargassum polycystum</i> (b)	10
2. Kromatogram ekstrak <i>n</i> -heksana <i>Sargassum polycystum</i> eluen etil asetat : <i>n</i> -heksana (3:7) (a) kromatogram ekstrak <i>n</i> -heksana <i>Sargassum polycystum</i> eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana (0,5:9,5) dengan pengulangan 3 kali (b)	12
3. Kromatogram fraksi 1-30 hasil KKV etil asetat: <i>n</i> -heksana (2,4:7,6) (a) kromatogram fraksi 19-30 hasil KKV aseton:etil asetat: <i>n</i> -heksana (2:2:6) (b)	12
4. Kromatogram fraksi III dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana (3:7)	13
5. Kromatogram fraksi III dengan eluen etil asetat: <i>n</i> -heksana (3:7) dengan pengulangan tiga kali	14
6. Kromatogram fraksi 1-18 fraksi III etil asetat: <i>n</i> -heksana (1,5:8,5) (a) kromatogram fraksi 19-23 fraksi III aseton:etil asetat: <i>n</i> -heksana (1:2,5:6,5) (b)	14
7. Kromatogram fraksi 3C etil asetat: <i>n</i> -heksana (2,85:7,15) (a) kromatogram fraksi 3C etil asetat: <i>n</i> -heksana (1,05:8,95) (b)	15
8. Kromatogram fraksi 3C 1-10 etil asetat: <i>n</i> -heksana (2,85:7,15) (a) kromatogram fraksi 3C 11-14 aseton:etil asetat: <i>n</i> -heksana (1:3:6) (b).....	15
9. Kromatogram fraksi 3C2 aseton:etil asetat: <i>n</i> -heksana (2,85:7,15) (a) kromatogram fraksi 3C2 etil asetat: <i>n</i> -heksana (2:8) (b) kromatogram fraksi 3C2 aseton: <i>n</i> -heksana (1:9) (c).....	16
10. Data spektrum FT-IR isolat 3C2	17
11. Zona hambat ekstrak <i>n</i> -heksana terhadap bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> dan <i>S. typhi</i> (a) Zona hambat isolat 3C2 terhadap bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> dan <i>S. typhi</i> (b)	18
12. Grafik regresi linear aktivitas antiinflamasi natrium diklofenak.....	21
13. Grafik regresi linear aktivitas antiinflamasi ekstrak <i>n</i> -heksana	21
14. Grafik regresi linear aktivitas antiinflamasi isolat 3C2	22

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Diagram alir penelitian	30
2.	Bagan kerja.....	31
3.	Perhitungan rendemen ekstrak <i>n</i> -heksana <i>Sargassum polycystum</i>	40
4.	Perhitungan pembuatan larutan untuk pengujian antibakteri	41
5.	Perhitungan pembuatan larutan untuk pengujian antiinflamasi	42
6.	Dokumentasi penelitian	47

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/singkatan	Arti dan Penjelasan
UV-Vis	<i>Ultraviolet-Visible</i>
KKV	Kromatografi Kolom Vakum
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
TBS	<i>Tris Buffer Saline</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
NB	<i>Nutrient Broth</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
TSA	<i>Tryptone Soya Agar</i>
TSB	<i>Tryptone Soya Broth</i>
FT-IR	<i>Fourier Transform-Infra Red</i>
MHA	<i>Muller Hilton Agar</i>
μ	Mikro

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara maritim yang kaya akan sumber daya lautnya, salah satunya adalah alga laut (Gazali dan Safutra, 2016). Kementerian Kelautan dan Perikanan menemukan bahwa terdapat 9,2 juta ton alga laut yang dipanen di Indonesia pada tahun 2022 (Badan Pusat Statistik, 2023). Alga laut mengandung senyawa bioaktif yang memiliki manfaat di sektor pangan, kosmetik, farmasi, dan sektor lainnya (Priyanka et al., 2022). Jasmadi et al. (2022) menyimpulkan, terdapat 903 spesies alga laut terdiri dari 201 spesies alga hijau (*Chlorophyta*), 564 spesies alga merah (*Rhodophyta*) dan 138 spesies alga coklat (*Phaeophyceae*, *Ochrophyta*).

Alga coklat banyak tersebar di pesisir pantai Indonesia (Sidauruk et al., 2021) dan telah digunakan sebagai obat tradisional sejak zaman dahulu untuk mengobati tekanan darah tinggi (Chellappan et al., 2020). Alga coklat juga dapat digunakan sebagai bahan baku kosmetik, pembuatan garam dan berkhasiat bagi kesehatan tubuh manusia (Manteu et al., 2018). Alga Coklat diperkirakan terdiri dari 285 genus dan 1.836 spesies (Wehr, 2015). Beberapa genus alga coklat yaitu *Padina*, *Turbinaria* dan *Sargassum* (Wouthuyzen et al., 2016).

Genus *Sargassum* terdiri dari 400 spesies yang telah diidentifikasi dan dianggap sebagai genus yang paling kaya akan spesies di antara makrofita maritim lainnya. *Sargassum* sp. memiliki kandungan senyawa triterpenoid, flavonoid, fenolik, saponin (Diachanty et al., 2017), polifenol (Lailatussifa dan Pereira, 2022), alkaloid dan steroid (Gazali et al., 2021). Senyawa aktif dalam *Sargassum* sp. memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antikanker, antitumor, antihipertensi, antiobesitas, antidiabetes, antifungi, antivirus, antialergi (ovalbumin dan udang), hipokolesterolemia, neuroprotektif, pencerah kulit, antiinflamasi, dan antibakteri (Rohim et al., 2019).

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak *Sargassum* sp. memiliki aktivitas antibakteri. Darfiah et al. (2021) menemukan bahwa ekstrak *n*-heksana dari *Sargassum* sp. memiliki zona hambat paling besar terhadap bakteri *Salmonella typhi* diikuti oleh *Vibrio harveyi* dan *Aeromonas hydrophila*. Ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* menunjukkan aktivitas bakteriostatik yang bagus terhadap *Bacillus cereus* (Wei et al., 2011). Elwadinata (2010) menemukan aktivitas antibakteri dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum duplicatum* terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Selain ekstrak, senyawa hasil isolasi dari *Sargassum* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Penelitian Palanisamy et al. (2019) menyebutkan bahwa fukoidan dari *Sargassum polycystum* memiliki aktivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri gram negatif. Selain itu senyawa sterol yang berhasil diisolasi dari *Sargassum granuliferum* memiliki aktivitas antibakteri lebih baik terhadap bakteri gram negatif daripada gram positif (Bakar et al., 2019).

Berdasarkan aktivitas antibakteri *Sargassum* sp. yang kuat, dapat diambil hipotesis bahwa senyawa aktif dari *Sargassum* sp. dapat menjadi pengobatan alternatif untuk melawan bakteri *S. typhi* dan *V. parahaemolyticus*. Pemilihan kedua bakteri ini karena keduanya merupakan bakteri gram negatif. Astrini et al. (2014) menyimpulkan bahwa

bakteri gram negatif lebih mudah dihambat dibandingkan dengan bakteri gram positif. Selain itu, sebuah tinjauan literatur mengungkapkan bahwa bakteri ini diketahui menyebabkan berbagai masalah kesehatan.

Bakteri *S. typhi* merupakan bakteri gram negatif yang menyebabkan demam tifoid (Ashurst et al., 2023) dan ditandai dengan terjadinya infeksi sistemik, demam dan gejala gastrointestinal seperti diare (Zha et al., 2019). *World Health Organization* (2023), menyimpulkan bahwa pada tahun 2019 terdapat 9 juta kasus demam tipoid dan 110 ribu kasus kematian yang disebabkan oleh penyakit tersebut setiap tahunnya. Selain menyebabkan demam tipoid, bakteri ini juga dapat menyerang jaringan limfatik serta menyebabkan radang usus yang dapat mengarah pada ulserasi, perforasi usus dan pendarahan (Rahman et al., 2018). Bakteri *V. parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif penyebab utama gastroenteritis pada manusia yang ditularkan melalui makanan laut (Matsuda et al., 2020). Bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi luka dan sepsis (Rezny dan Evans, 2023). Bakteri *S. typhi* (Kasim, 2020) dan bakteri *V. parahaemolyticus* (Wang et al., 2015) selain dapat menyebabkan infeksi bakteri juga dapat menyebabkan inflamasi.

Inflamasi merupakan respon imun kompleks untuk melindungi organ tubuh dari infeksi dan cedera jaringan (Kotas dan Medzhitov, 2016) yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak dan zat mikrobiologik (Abidin et al., 2019). Antiinflamasi mengacu pada sifat suatu zat atau pengobatan yang dapat mengurangi inflamasi (Yende et al., 2014). Bunga dan Fernandez (2023) menyimpulkan bahwa pengobatan utama untuk inflamasi adalah penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid (AINS), opioid dan kortikosteroid. Penggunaan obat tersebut secara terus-menerus dan berkepanjangan dapat menyebabkan resistensi (Putri et al., 2023). Salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah menggunakan obat herbal, khususnya yang berasal dari biota laut (Nurhikmah et al., 2021).

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak *Sargassum* sp. memiliki aktivitas antiinflamasi. Penelitian Al-Hashdy et al. (2022) menemukan aktivitas antiinflamasi dari fraksi *n*-heksana dan kloroform ekstrak etanol *S. micracanthum*. Raman et al. (2014) juga mengidentifikasi bahwa ekstrak *n*-heksana dari *S. wightii* memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap edema kaki yang diinduksi karagenan pada tikus albino. Senyawa hasil isolasi dari *Sargassum* sp. juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi (Catarino et al., 2023). Hwang et al. (2011) menemukan bahwa polisakarida tersulfasi yang diisolasi dari *Sargassum hemiphyllum* memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat lipopolisakarida dan produksi sitokin pro-inflamasi pada sel makrofag. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Sanjeewa et al. (2021) menyimpulkan bahwa fukoidan yang diisolasi dari genus *Sargassum* memiliki aktivitas antiinflamasi. Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat murni dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum*. Selain itu, ekstrak *n*-heksana dan isolat yang diperoleh diharapkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. typhi* dan *V. parahaemolyticus* dan antiinflamasi sehingga penggunaan bahan alam laut khususnya *Sargassum polycystum* dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. bagaimana profil fitokimia dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum*?
2. bagaimana karakteristik senyawa kimia yang berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* berdasarkan analisis data spektroskopi?
3. bagaimana aktivitas antibakteri dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* dan isolat yang diperoleh terhadap bakteri *S. typhi* dan *V. parahaemolyticus*?
4. bagaimana aktivitas antiinflamasi dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* dan isolat yang diperoleh?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. mengidentifikasi kandungan dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum*.
2. mengidentifikasi golongan senyawa kimia yang berhasil diisolasi dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* berdasarkan analisis data spektroskopi.
3. menganalisis aktivitas antibakteri dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* dan isolat yang diperoleh terhadap bakteri *S. typhi* dan *V. parahaemolyticus*.
4. menganalisis aktivitas antiinflamasi dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* dan isolat yang diperoleh secara *in vitro*.

1.3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu:

1. memberikan pemahaman mengenai kandungan dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum*.
2. memberikan pemahaman mengenai golongan senyawa hasil isolasi dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* berdasarkan analisis data spektroskopi.
3. memberikan pemahaman tentang kemampuan ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* dalam menghambat bakteri *S. typhi* dan *V. parahaemolyticus*.
4. memberikan pemahaman tentang aktivitas antiinflamasi ekstrak dan senyawa hasil isolasi dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum*.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, alga coklat *Sargassum polycystum* yang berasal dari Kepulauan Selayar, etil asetat teknis, kloroform p.a, aseton teknis, *n*-heksana teknis, metanol teknis, plat KLT (Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,25 mm), akuades, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Muller Hilton Agar* (MHA), *paper disk* steril (diameter 6 mm), akuades steril, kapas, kultur bakteri *Salmonella typhi* dari Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains Universitas Hasanuddin, kultur bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat, pipa kapiler, kertas saring Whatmann nomor 42, natrium diklofenat, kloramfenikol, DMSO (Merck), asam asetat (Merck), *Tris Base* (Merck), *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Merck), NaCl (Merck), *silica gel* 60 (Merck), reagen Mayer (Nitro Kimia), reagen Wagner (Nitro Kimia), reagen Dragendorff (Nitro Kimia), FeCl₃ 10%, serbuk magnesium, asam klorida pekat (Merck), larutan serum sulfat, asam sulfat (Merck), *ciprofloxacin*, plastik *wrap* dan tisu.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium, *rotary evaporator*, botol vial, timbangan digital, *chamber*, toples kaca, corong Buchner, pompa vakum, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR), oven, seperangkat alat Kromatografi Kolom Vakum (KKV), Kromatografi radial, *hot plate*, seperangkat alat destilasi, autoklaf, mikropipet beserta *blue* dan *yellowtip*, alat uji titik leleh, inkubator, cawan petri, jarum ose, inkubator, *hockey stick*, jangka sorong, labu erlenmeyer, *vortex mixer*, pembakar bunsen, *laminar air flow*, batang pengaduk, rak tabung reaksi, dan tabung reaksi.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2023-Oktober 2024 di Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel dilakukan di Kepulauan Selayar. Karakterisasi menggunakan Spektrofotometer FT-IR di Laboratorium Terpadu Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Universitas Hasanuddin dan Laboratorium PCR Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar. Pengujian aktivitas antiinflamasi dilakukan di Laboratorium Biokimia Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Sampel

Alga laut *Sargassum polycystum* segar sebanyak 20 kg dicuci dan dibilas menggunakan akuades hingga bersih, kemudian dikering-anginkan. *Sargassum polycystum* yang telah kering selanjutnya dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh.

2.4.2 Ekstraksi Alga Coklat (*Sargassum polycystum*)

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Serbuk *Sargassum polycystum* sebanyak 2,4 kg dimasukkan ke dalam toples tertutup, kemudian ditambahkan pelarut *n*-heksana dengan perbandingan 1:2 lalu didiamkan selama 1 x 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukkan. Pelarut *n*-heksana diganti setiap 24 jam dan dikontrol dengan KLT. Filtrat yang diperoleh disaring dengan menggunakan penyaring *Buchner*, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Prosedur yang sama dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat dan metanol. Ekstrak *n*-heksana kering yang diperoleh, dianalisis menggunakan KLT untuk memilih eluen terbaik yang akan digunakan pada tahap fraksinasi (Akbar et al., 2021).

2.4.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia (Harborne, 1987)

a. Uji Alkaloid

Ekstrak *n*-heksana dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer, dan tabung III ditambahkan 2-3 tetes reagen Wagner. Hasil positif pada tabung I jika terbentuk endapan jingga dan pada tabung II serta III, terbentuk endapan merah bata.

b. Uji Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak *n*-heksana sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL kloroform, 0,5 mL anhidrida asetat, dan 2 mL H₂SO₄. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid, sedangkan jika berwarna merah menandakan adanya senyawa terpenoid.

c. Uji Tanin

Ekstrak *n*-heksana sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna hijau kebiruan atau hijau gelap.

d. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak *n*-heksana dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,05 mg serbuk magnesium serta 1 mL HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan adanya warna merah, jingga, atau hijau.

e. Uji Saponin

Ekstrak *n*-heksana sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan

ditambahkan air (1:1) sambil dikocok selama 15 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N. Hasil positif jika busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm.

2.4.4 Fraksinasi (Syahwiranto dan Theresih, 2018)

Ekstrak *n*-heksana dipisahkan komponen senyawanya menggunakan kromatografi kolom vakum (KKV) atau kromatografi radial. Eluen yang digunakan adalah eluen yang diperoleh melalui metode *trial and error* uji KLT terhadap fraksi *n*-heksana. Hasil elusi ditampung sebagai fraksi-fraksi. Fraksi-fraksi ini selanjutnya dianalisis profil nodanya menggunakan KLT, fraksi yang memiliki profil noda yang sama kemudian digabungkan menjadi fraksi yang sama dan diamati pertumbuhan isolat berupa kristal.

2.4.5 Pemurnian (Amaliah et al., 2020)

Isolat hasil fraksinasi dimurnikan dengan menggunakan metode rekristalisasi hingga diperoleh kristal murni. Kristal dikatakan murni apabila hanya menunjukkan satu noda pada uji KLT.

2.4.6 Karakterisasi Senyawa

2.4.6.1 Penentuan Titik Leleh (Firdaus, 2009)

Penetapan titik leleh dilakukan dengan menggunakan alat *melting point*. Kristal dimasukkan ke dalam pipa kapiler yang telah ditutup salah satu ujungnya, kemudian diketuk-ketuk hingga kristal mampat. Selanjutnya pipa kapiler dimasukkan ke dalam alat *melting point* dan suhu dinaikkan perlahan-lahan. Lazimnya tiap menit suhu dinaikkan 1°C. Titik leleh ditandai pada saat kristal mulai meleleh sampai kristal meleleh sempurna. Senyawa dikatakan murni apabila memiliki titik leleh dengan rentang tidak lebih dari 2°C.

2.4.6.2 Penentuan Menggunakan FT-IR

Isolat murni yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer *Fourier-Transform Infra Red* (FT-IR). Spektrofotometer FT-IR digunakan untuk menentukan adanya gugus fungsi dalam struktur kimia. Karakterisasi isolat dengan spektrofotometer FT-IR dilakukan dengan cara membuat pelet yang terdiri dari campuran isolat sebanyak 0,5-1,0 mg dengan 100 mg KBr (Firdaus, 2009). Pelet dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer inframerah kemudian diukur spektrum inframerah pada bilangan gelombang 4000-500 cm⁻¹ (Watson, 2005).

2.4.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Cakram

2.4.7.1 Preparasi Sampel Uji

Ekstrak kering *n*-heksana *Sargassum polycystum* dan isolat dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum* sp. ditimbang sebanyak 1 mg, kemudian dilarutkan hingga 1 mL menggunakan *n*-heksana dan etil asetat.

2.4.7.2 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Nutrient Broth sebanyak 0,5 gram (1%) dilarutkan di dalam 50 ml air garam. Larutan kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 9 ml dan

ditutup dengan kapas dan aluminium *foil* agar tidak terkontaminasi. Media cair kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama kurang lebih 1 jam. Setelah steril, media nutrient broth didinginkan pada *laminar air flow* kemudian disimpan di dalam kulkas. *Nutrient Broth* yang sudah dibuat akan dipakai pada tahap peremajaan bakteri (Napitupulu et al., 2019).

2.4.7.3 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Media *Nutrient agar* dibuat dengan mencampurkan 2 gram *nutrient broth* (1%), dan 4 gram agar (2%) ke dalam 200 ml air garam dan diaduk menggunakan magnetic stirer. Setelah bahan teraduk secara sempurna, erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil dan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama kurang lebih 1 jam. Media yang sudah steril kemudian dituang secara aseptik ke dalam cawan petri steril hingga permukaan cawan petri tertutup dengan media agar. Selanjutnya, media agar didiamkan hingga mengeras dan ditutup menggunakan *cling wrap* agar tidak terkontaminasi. Media agar digunakan sebagai media tumbuh dan isolasi bakteri (Napitupulu et al., 2019).

2.4.7.4 Pembuatan Media *Muller Hilton Agar* (MHA)

Bubuk MHA ditimbang sebanyak 4.08 g kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Selanjutnya dilarutkan dengan NaCl 2,5% sebanyak 120 mL yang sudah disterilkan. Kemudian dihomogenkan dan disterilkan di dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah MHA steril, MHA dituangkan ke dalam 6 cawan petri sebanyak kurang lebih 20 mL. Penuangan MHA pada cawan petri dilakukan dalam *laminar air flow* (Alfajri et al., 2018).

2.4.7.5 Pembuatan Media *Tryptone Soya Agar* (TSA) dan *Tryptone Soya Broth* (TSB)

Bubuk TSA sebanyak 10 gram dan TSB sebanyak 7,5 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu masing-masing dilarutkan dengan menambahkan 250 mL akuades. Kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* sambil dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Purwanti dan Susanti, 2016).

2.4.7.6 Pembuatan Standar 0,5 McFarland

Biakan bakteri diambil menggunakan ose sebanyak 1 ose, kemudian disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% sebanyak 40 mL. Larutkan menggunakan vortex sampai diperoleh kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 McFarland atau sebanding dengan jumlah bakteri 10⁸ (CFU)/mL (Alfajri et al., 2018).

2.4.7.7 Peremajaan Bakteri

Kultur murni bakteri uji *Salmonella typhi* diinokulasi secara aseptis pada media NB (Utami dkk., 2023). Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* diinokulasi secara aseptis pada media TSB dan TSA (Datu, 2017).

2.4.7.8 Pengujian Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode Difusi Cakram

Sebanyak 1 ml suspensi bakteri uji diinokulasi pada media NA dan MHA dalam cawan petri. Kemudian sampel uji ekstrak *n*-heksana *Sargassum* sp. dan isolat ekstrak *n*-heksana konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm. Sebanyak 20 µl diambil dan dioleskan pada kertas cakram berdiameter 6 mm. Setelah pelarut menguap, lalu diletakkan di atas media agar yang telah berisi bakteri uji. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotik komersial *ciprofloxacin* dan kloramfenikol sebanyak 30 µg, sedangkan kontrol negatif menggunakan pelarut *n*-heksana sebanyak 20 µl. Cawan petri yang berisi sampel uji dibungkus dengan plastik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar cakram kemudian diukur menggunakan jangka sorong (Darfiah et al., 2021).

2.4.8 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi Metode Denaturasi Protein

2.4.8.1 Pembuatan Larutan *Tris Buffer Saline* (TBS)

Tris base ditimbang sebanyak 0,3125 gram dan NaCl 2,175 gram, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan ditambahkan akuades sebanyak 200 mL. Selanjutnya, pH distabilkan dengan menambahkan asam asetat glasial hingga pH 6,2-6,5 dan ditambahkan akuades hingga tanda batas (Novika et al., 2021).

2.4.8.2 Pembuatan 0,2% *Bovine Serum Albumin* (BSA)

BSA ditimbang sebanyak 0,2 gram lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan larutan TBS hingga tanda batas (Novika et al., 2021).

2.4.8.3 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Natrium diklofenak ditimbang sebanyak 3 mg dan dilarutkan dengan DMSO sebanyak 3 mL (1000 ppm). Kemudian dipipet masing-masing sebanyak 1,5; 0,75; dan 0,75 mL dan dimasukkan pada vial. Selanjutnya ditambahkan DMSO hingga 3 mL. Konsentrasi larutan kontrol positif yang didapatkan adalah 500; 125 dan 31,25 ppm (Tukiran et al., 2023 yang sudah dimodifikasi).

2.4.8.4 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dari 24 mg ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* dan 3 mg isolat dilarutkan dalam 3 mL pelarut DMSO untuk ekstrak dan 1 mL untuk isolat (larutan uji ekstrak 8000 ppm dan isolat 3C2 1000 ppm). Selanjutnya ekstrak *n*-heksana dipipet masing-masing sebanyak 0,75 mL dan 0,75 mL. Isolat dipipet masing-masing sebanyak 1,5; 0,75 dan 0,75 mL, kemudian dimasukkan pada vial. Selanjutnya ditambahkan DMSO hingga 3 mL. Konsentrasi larutan uji yang diperoleh adalah 8000; 2000 dan 500 ppm untuk ekstrak dan 500; 250 dan 125 ppm untuk isolat (Tukiran et al., 2023 yang sudah dimodifikasi).

2.4.8.5 Pengujian Aktivitas Antiinflamasi Metode Denaturasi Protein

Metode ini dilakukan berdasarkan Tukiran et al. (2023) yang sudah dimodifikasi, dimana larutan uji dan kontrol positif diambil sebanyak 500 µL dan ditambahkan larutan 0,2% BSA hingga volume mencapai 5 mL. Setiap larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit. Selanjutnya dipanaskan di dalam *water bath* selama 5 menit pada

suhu 72-75°C dan didinginkan selama 25 menit pada suhu ruang (25-35°C). Selanjutnya, larutan dihomogenkan dengan *vortex* dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 660 nm. Persentase penghambatan (% inhibisi) terhadap denaturasi protein diukur menggunakan persamaan 1:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100\% \quad (1)$$

Senyawa yang menghambat denaturasi protein lebih besar dari 20% maka dapat dikatakan memiliki aktivitas antiinflamasi. Nilai IC₅₀ dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum*, isolat dari ekstrak *n*-heksana *Sargassum polycystum* dan natrium diklofenak dapat dihitung dari persamaan regresi linear antara konsentrasi (X) dengan persen inhibisi (Y).