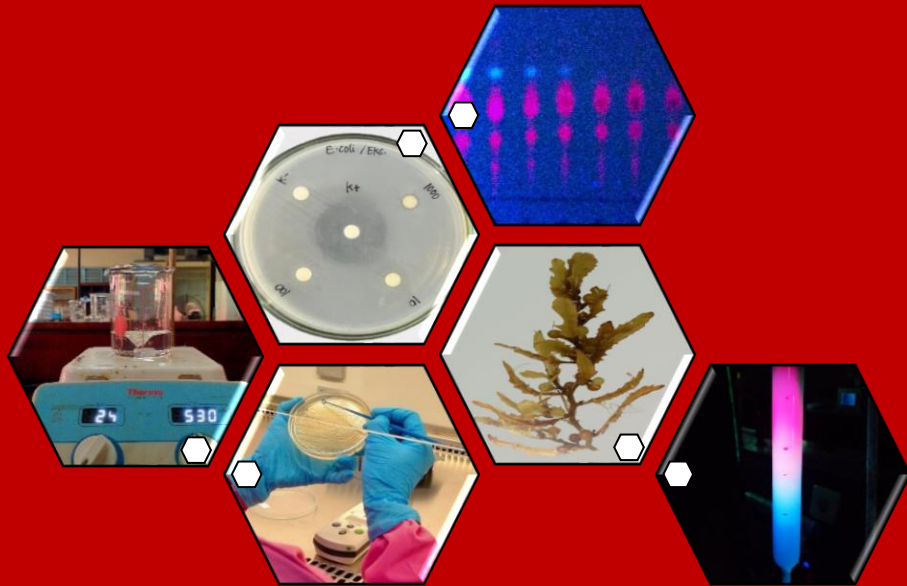


**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK ETIL ASETAT ALGA
COKLAT (*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**



ANNISA RIFDAH MAGHFIRA

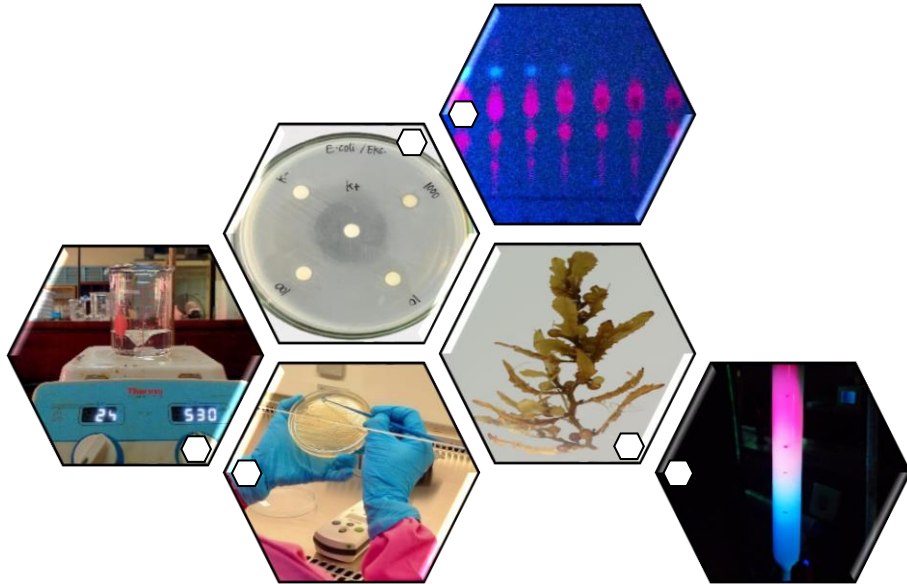
H031191040



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

2024

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK ETIL ASETAT ALGA
COKLAT (*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**



ANNISA RIFDAH MAGHFIRA

H031191040



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

2024

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK ETIL ASETAT ALGA
COKLAT (*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**

**ANNISA RIFDAH MAGHFIRA
H031191040**



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

**ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK ETIL ASETAT ALGA
COKLAT (*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKTIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**

ANNISA RIFDAH MAGHFIRA
H031191040

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 ETIL ASETAT ALGA
COKLAT (*Sargassum polycystum*) SERTA UJI BIOAKIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIINFLAMASI**

ANNISA RIFDAH MAGHFIRA
H031191040

Skripsi

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Sains pada 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

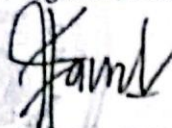
Pembimbing Pertama,



Dr. Herlina Rasyid, S.Si
NIP. 199304142022044001

Mengetahui:

Ketua Program Studi,



Dr. St. Feziah, 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 Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) serta Uji Bioaktivitas sebagai Antibakten dan Antiinflamasi" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (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.

Makassar, November 2024



Annisa Rifah Maghfira
Annisa Rifah Maghfira
H031191040

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Isolasi Senyawa Kimia Ekstrak Etil Asetat dari Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) serta Bioaktivitas sebagai Antibakteri dan Antiinflamasi**”. Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada **Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS** sebagai pembimbing utama dan **Dr. Herlina Rasyid, S.Si** sebagai pembimbing pertama yang senantiasa memberikan motivasi dan arahan dalam penyelesaian penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada:

1. Ketua dan Sekretaris Departemen Kimia, Ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si** dan Ibu **Dr. Nur Umriani Permatasari, S.Si., M.Si**, atas bimbingan dan bantuan selama proses perkuliahan.
2. Dosen penguji, Ibu **Dr. St. Fauziah, M.Si** dan Ibu **Bulkis Musa, S.Si., M.Si** yang memberikan banyak ilmu dan masukan selama penyusunan skripsi.
3. Seluruh dosen, Staf, dan Analis Laboratorium di Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
4. Orang tua tercinta, Bapak **H. Selamat Indiarman, S.Pd** dan Ibu **Hj. Sitti Maimuna, S. Kep., Ners**, serta adik **Muh. Fadil Rahman** yang senantiasa mendidik, mendukung, serta memberikan doa tulus di setiap perjalanan hidup penulis.
5. Peneliti Kimia Organik angkatan 2019 selaku teman seperjuangan, **Alfiyah Nur'aini Musyahadah, Anita Rahelea Rangga Bua, Indah Muthmainnah Monoarfa, dan Ismi Sri Rahayu**.
6. Para peneliti di Departemen Kimia jenjang S1, Kakak **Nur Fatin Rafidah, S.Si.**, Kakak **Maghfiratul Wahdaniyah, S.Si.**, dan Kakak **Salman Amir, S.Si**.
7. Para peneliti di Departemen Kimia jenjang S2, Kakak **Ni Putu Kasturiasih, S.Si., M.Si.**, Kakak **Nurul Amaliah, S.Si., M.Si**, Kakak **Musniati Azis, S.Si., M.Si**, Kakak **Putut Waskito, S.Si., M.Si.**, Kakak **Muh. Fa'iq Zhahirin, S.Si.**, Kakak **Nur Wahyuni Nahru, S.Si.**, dan Kak **Ainunnisa S.Si**.
8. Para peneliti di Departemen Kimia jenjang S3, Ibu **Khadijah, S.Si, M.Si.**, Ibu **Dr. Sernita, S.Si., M.Pd.**, dan Kakak **Dr. Bahrun, S.Si**.
9. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas bantuan dan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna karena keterbatasan pengalaman dan pengetahuan penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan segala bentuk saran, masukan, serta kritik dari berbagai pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga karya tulis ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Penulis

Annisa Rifdah Maghfira

ABSTRAK

ANNISA RIFDAH MAGHFIRA. **Isolasi Senyawa Kimia dari Ekstrak Etil Asetat Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) serta Uji Bioaktivitas sebagai Antibakteri dan Antiinflamasi** (dibimbing oleh Nunuk Hariani Soekamto dan Herlina Rasyid).

Latar Belakang. *Sargassum polycystum* merupakan alga coklat yang memiliki khasiat dalam mengobati berbagai jenis penyakit. Senyawa dalam ekstrak etil asetat genus *Sargassum* diketahui memiliki bioaktivitas yang beragam, diantaranya sebagai antibakteri dan antiinflamasi. Penelitian yang ditemukan saat ini masih berfokus pada pencarian efektivitas dari ekstrak sampel, sedangkan penelusuran isolat yang potensial masih sangat jarang dilakukan. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat dari ekstrak etil asetat *Sargassum polycystum* yang diuji bioaktivitasnya sebagai antibakteri dan antiinflamasi. **Metode.** Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahapan, yakni ekstraksi dengan teknik maserasi bertingkat, evaporasi, fraksinasi, dan pemurnian isolat; identifikasi isolat melalui analisis fitokimia, titik leleh, dan spektroskopi FTIR; serta pengujian bioaktivitas sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode difusi cakram, dan pengujian antiinflamasi secara *in vitro* melalui metode penghambatan denaturasi protein. **Hasil.** Ekstrak etil asetat yang dihasilkan memiliki rendemen sebesar 0,50% dan positif mengandung golongan senyawa steroid, flavonoid, dan saponin. Senyawa asam palmitat berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat *Sargassum polycystum* yang termasuk golongan asam lemak jenuh dengan titik leleh 56-58°C. Ekstrak etil asetat dan asam palmitat menghasilkan zona hambat sebesar 7,21 dan 8,54 mm pada konsentrasi 1000 ppm, sedangkan uji terhadap *Vibrio parahaemolyticus* tidak menunjukkan adanya zona hambat. Ekstrak etil asetat dan asam palmitat memiliki aktivitas antiinflamasi dengan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 151,94 dan 85,16 ppm. **Kesimpulan.** Ekstrak etil asetat dan asam palmitat yang diisolasi dari *Sargassum polycystum* memiliki potensi yang tergolong sedang sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*, namun tergolong lemah terhadap *Vibrio parahaemolyticus*. Uji antiinflamasi ekstrak etil asetat tergolong sedang, sementara asam palmitat memiliki aktivitas antiinflamasi yang kuat.

Kata kunci: asam palmitat; denaturasi protein; difusi cakram; *Sargassum polycystum*

ABSTRACT

ANNISA RIFDAH MAGHFIRA. **Isolation of Chemical Compound from Ethyl Acetate Extract Brown Algae (*Sargassum polycystum*) and Its Bioactivity as Antibacterial and Antiinflammatory** (supervised by Nunuk Hariani Soekamto and Herlina Rasyid).

Background. *Sargassum polycystum* is brown algae that have potential in treating several diseases. Compounds in the ethyl acetate extract of *Sargassum* are found to be valuable for different types of diseases, including antibacterial and antiinflammatory. Previous research focuses on finding the effectiveness of the extract, while the search for potential isolates is rarely done. **Aims.** This study aims to obtain isolates from ethyl acetate extract of *Sargassum polycystum* that are examined for their antibacterial and antiinflammatory. **Methods.** This research was conducted through three stages, namely extraction with gradual maceration techniques, evaporation, fractionation, and compound purification; 2) isolate identification was carried out by phytochemical, melting point, and FTIR spectroscopy analysis; and antibacterial tests against *Escherichia coli* and *Vibrio parahaemolyticus* by the disc diffusion method, and antiinflammatory tests through *in vitro* analysis using the protein denaturation inhibition method. **Results.** Ethyl acetate extract obtain a yield of 0,50% and positively contained steroid, flavonoid, and saponin compounds. Palmitic acid successfully isolated from the ethyl acetate extract of *Sargassum polycystum* belong to saturated fatty acids by melting point 56-58°C. Ethyl acetate extract and palmitic acid showed inhibition zones of 7.21 and 8.54 mm at a concentration of 1000 ppm, while the test against *Vibrio parahaemolyticus* showed no inhibition zone. Ethyl acetate extract and palmitic acid showed antiinflammatory activity with IC₅₀ of 151,94 and 85,16 ppm, respectively. **Conclusion.** Ethyl acetate extract and palmitic acid isolated from *Sargassum polycystum* have moderate antibacterial against *Escherichia coli*, but relatively weak against *Vibrio parahaemolyticus*. The antiinflammatory test of ethyl acetate extract was moderate, while palmitic acid had strong antiinflammatory activity.

Keywords: palmitic acid; protein denaturation; disc diffusion; *Sargassum polycystum*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH	xiii
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II METODE PENELITIAN	5
2.1 Bahan Penelitian	5
2.2 Alat Penelitian	5
2.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	5
2.4 Prosedur Penelitian.....	6
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....	13
3.1 Identifikasi dan Preparasi Sampel	13
3.2 Ekstraksi.....	13
3.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia	14
3.4 Isolasi dan Pemurnian	16
3.5 Karakterisasi Senyawa Kimia	25
3.6 Pengujian Bioaktivitas sebagai Antibakteri	27
3.7 Pengujian Bioaktivitas sebagai Antiinflamasi.....	29
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	32
4.1 Kesimpulan	32
4.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Hasil ekstraksi <i>S. polycystum</i>	14
2. Hasil identifikasi senyawa kimia <i>S. polycystum</i>	14
3. Fraksi gabungan KKV pertama beserta bobot setiap fraksi	19
4. Kode fraksi hasil KKV pertama beserta bobot setiap fraksi.....	21
5. Hasil identifikasi senyawa kimia A2.5(1).4	25
6. Bilangan gelombang data FTIR isolat A2.5(1).4	26
7. Hasil pengukuran aktivitas antibakteri terhadap <i>Escherichia coli</i>	27
8. Hasil pengukuran aktivitas antibakteri terhadap <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	28
9. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i> dan isolat A2.5(1).4	29
10. Nilai IC ₅₀ ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i> dan isolat A2.5(1).4	31

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Ilustrasi pengukuran diameter zona hambat	9
2. Profil KLT maserat 1-4 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen etil asetat dan <i>n</i> -heksana (1:9).....	13
3. Reaksi senyawa flavonoid dengan ion Mg dan HCl pekat.....	15
4. Reaksi senyawa saponin dengan akuades	15
5. Reaksi steroid dengan pereaksi Lieberman-Buchard	16
6. Profil KLT fraksi 1-18 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c)..	17
7. Profil KLT fraksi 1-18 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen etil asetat dan <i>n</i> -heksana (8:2).....	17
8. Profil KLT fraksi 16-30 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen aseton, etil asetat, dan <i>n</i> -heksana (2,5:3:4,5)	18
9. Profil KLT fraksi 29-35 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen aseton, etil asetat, dan kloroform (1:5:4)	18
10. Profil KLT fraksi A-K di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan etil asetat dan <i>n</i> -heksana (8:2)	19
11. Profil KLT fraksi A-A5 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen etil asetat dan <i>n</i> -heksana (1,5:8,5).....	20
12. Profil KLT fraksi A-A5 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen etil asetat dan <i>n</i> -heksana (9: 1)	21
13. Profil KLT fraksi A2.1-A2.10 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen etil asetat dan <i>n</i> -heksana (1,5: 8,5)	22
14. Profil KLT fraksi A2.5-A2.6 di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c)	22
15. Profil KLT fraksi A2.5 elusi pertama (a), elusi kedua (b), elusi ketiga (c), dan elusi keempat (c)	23
16. Profil KLT fraksi A2.5(1) di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a), di bawah lampu <i>short wave</i> (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO ₄ (c) dengan eluen etil asetat dan <i>n</i> -heksana (0,5:8,5).....	23

17. Profil KLT fraksi A2.5(1) di bawah lampu UV <i>long wave</i> (a) dan di bawah lampu <i>short wave</i> (b) dengan eluen etil asetat dan <i>n</i> -heksana (0,5:8,5).....	24
18. Profil KLT fraksi A2.5(1).4 pada Rf 0,3 (a), Rf 0,5 (b), dan (c) Rf 0,8 ..	24
19. Spektrum FTIR asam palmitat (a) dan isolat A2.5(1).4 (b)	26
20. Struktur senyawa isolat A2.5(1).4 berupa asam palmitat.....	27
21. Zona hambat ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i> (a) dan isolat A2.5(1).4 (b) terhadap <i>E. coli</i>	28
22. Zona hambat ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i> (a) dan isolat A2.5(1).4 (b) terhadap <i>V. parahaemolyticus</i>	29
23. Grafik hubungan persen daya hambat dan konsentrasi kontrol positif	30
24. Grafik hubungan persen daya hambat dan konsentrasi ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i>	30
25. Grafik hubungan persen daya hambat dan konsentrasi isolat A2.5(1).4	31

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Diagram alir penelitian	43
2. Bagan prosedur penelitian.....	44
3. Hasil identifikasi sampel.....	55
4. Perhitungan persentase rendemen ekstrak <i>S. polycystum</i>	56
5. Eluen fraksinasi pertama ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i>	57
6. Eluen pada proses fraksinasi untuk fraksi A	58
7. Eluen pada proses KKG fraksi A2	59
8. Bagan alir isolasi isolasi A2.5.(1).4.....	50
9. Perhitungan pembuatan larutan pengujian antibakteri	61
10. Perhitungan pembuatan larutan induk dan deret uji antiinflamasi	63
11. Perhitungan pembuatan larutan uji setelah penambahan BSA 0,2% ..	67
12. Perhitungan persen daya hambat uji antiinflamasi	70
13. Perhitungan nilai IC ₅₀ uji antiinflamasi	73
14. Dokumentasi penelitian	74

DAFTAR ISTILAH

Istilah	Arti dan Penjelasan
Aterosklerosis	penyempitan dan pengerasan pembuluh darah akibat penumpukan lemak atau plak pada dinding pembuluh darah
Bakteremia	kondisi ketika bakteri terdapat pada aliran darah
Gastroenteritis	peradangan pada lapisan usus yang disebabkan oleh infeksi virus dan bakteri
Gastrointestinal	sistem organ yang berkaitan dengan sistem pencernaan, terutama lambung dan usus
Meningitis	kondisi peradangan pada selaput pelindung yang mengelilingi otak dan sumsum tulang belakang
<i>Rheumatoid arthritis</i>	peradangan jangka panjang pada sendi akibat sistem kekebalan tubuh yang secara keliru menyerang tubuh
<i>Rhinitis vasomotor</i>	kondisi peradangan pada mukosa hidung
Septikemia	infeksi akibat bakteri yang terdapat pada aliran darah yang dapat memicu sepsis
Standar Mc. Farland	pengukuran yang digunakan untuk menyatakan tingkat kekeruhan sel tersuspensi dalam mikrobiologi

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/singkatan	Arti dan Penjelasan
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>
COX-1	<i>Cyclooxygenase-1</i>
COX-2	<i>Cyclooxygenase-2</i>
DMSO	Dimetil Sulfoksida
FTIR	<i>Fourier Transform Infra-Red</i>
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration 50%</i>
KKG	Kromatografi Kolom Gravitasi
KKT	Kromatografi Kolom Tekan
KKV	Kromatografi Kolom Vakum
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
KLTP	Kromatografi Lapis Tipis Preparatif
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
mm	<i>Milimeter</i>
NA	<i>Nutrient Agar</i>
nm	<i>Nanometer</i>
pH	<i>Potential of Hydrogen</i>
ppm	<i>Part per million</i>
TBS	<i>Tris Base Saline</i>
UV	<i>Ultra Violet</i>
UV-Vis	<i>Ultra Violet-Visible</i>
μ	Mikro

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara dengan sumber daya alam maritimnya yang melimpah, salah satunya adalah alga coklat (Natsia dan Jabar, 2021). Alga coklat merupakan salah satu bahan alami yang sering digunakan baik dalam industri pangan, kosmetik, dan farmasi (Sampulawa dan Bahalwan, 2022). Nilai produksi dan budidaya dari alga coklat pada tahun 2022 menembus angka yang sangat tinggi sebesar 2.224.478 Ton (KKP, 2022). Selain keunggulannya dari segi produksi dan budidaya, alga coklat juga kaya akan zat gizi serta berbagai senyawa yang dapat diaplikasikan sebagai obat untuk berbagai kondisi dan penyakit, baik dalam bentuk makanan maupun suplemen untuk pencegahan penyakit serta pemeliharaan kesehatan (Cardoso et al., 2015; Ganesan et al., 2019).

Salah satu dari jenis alga coklat yang jumlahnya melimpah dan mudah dipanen di Indonesia adalah *Sargassum*. *Sargassum* merupakan genus dari alga coklat dengan biodiversitas terbanyak yang mana dari 28 spesies alga coklat yang diidentifikasi di Indonesia, 14 diantaranya termasuk ke dalam genus *Sargassum* (Isnansetyo et al., 2015). *Sargassum polycystum* (*S. polycystum*) merupakan salah satu spesies dari genus *Sargassum* yang diketahui memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi karena kandungan alginat dan iodin yang digunakan pada industri pangan, farmasi, kosmetik, dan tekstil. Selain itu, *S. polycystum* juga mengandung senyawa aktif, seperti senyawa dari golongan steroid, alkaloid, fenol, dan triterpenoid yang berfungsi sebagai senyawa antimikroba baik terhadap jamur dan bakteri (Pakidi dan Suwoyo, 2016).

Potensi fitokimia *S. polycystum* telah mendapat perhatian para peneliti dari berbagai bidang. Analisis fitokimia dari *Sargassum polycystum* mengonfirmasi adanya kandungan senyawa golongan tanin, saponin (Mulyadi et al., 2019), terpenoid, polisakarida, polifenol, gliserida (Johnson et al., 2019), fukoidan, fukosantin, fukosterol, dan florotanin (Liu et al., 2020). Analisis fitokimia tersebut bisa berbeda tergantung pada pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi komponen senyawa tersebut. Hal ini disebabkan karena kepolaran dari masing-masing komponen senyawa yang berbeda-beda. Komponen senyawa yang terkandung akan terekstraksi pada pelarut yang memiliki kepolaran yang sama (Sampulawa dan Bahalwan, 2022). Komponen senyawa fitokimia pada *S. polycystum* telah dilaporkan memiliki berbagai bioaktivitas, diantaranya sebagai antioksidan (Santiyoga et al., 2020), antidiabetes (Puspantri et al., 2020), antitumor (Saetan et al., 2021), antiinflamasi (Saraswati et al., 2019), gastroprotektif, osteoprotektif, serta antimikroba terhadap bakteri patogen (Meinita et al., 2021).

Bakteri patogen diketahui dapat menyebabkan berbagai kasus infeksi pada manusia. Infeksi oleh bakteri patogen menjadi salah satu penyebab kematian di dunia dengan jumlah kasus sebesar 7,7 juta jiwa sepanjang tahun 2019. *Escherichia*

coli (*E. coli*) adalah salah satu bakteri patogen penyebab kematian pada bayi dengan persentase hingga 40% (Bai et al., 2012; Ramadhani et al., 2020). Bakteri ini umumnya menginfeksi saluran pencernaan, sehingga dapat menyebabkan penyakit diare dan pendarahan pada usus manusia (Dewi et al., 2020; Sitepu et al., 2020). Selain infeksi pada saluran pencernaan, bakteri tersebut dapat menyebabkan penyakit ekstraintestinal (infeksi di luar saluran pencernaan), seperti infeksi saluran kemih, infeksi panggul, pneumonia, bakteremia, dan meningitis (Long et al., 2022; Yu et al., 2022). Penanganan pada kasus infeksi *E. coli* dilakukan dengan pemberian antibiotik ciprofloxacin, namun ciprofloxacin memiliki efek samping berupa kulit kemerahan, gatal, pusing, dan bengkak (Jerry, 2017).

Bakteri lain yang juga diketahui bersifat patogen bagi manusia, yakni *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*). Bakteri gram negatif ini dapat menyebabkan gastroenteritis, septikemia, dan kematian (Chen et al., 2023; Valez et al., 2023). Penelitian oleh Plaza et al. (2024) menyimpulkan bahwa bakteri *V. parahaemolyticus* menyebabkan disfungsi mitokondria yang mengakibatkan kematian sel usus manusia (sel HT-29). Selain itu, bakteri ini juga dapat menyebabkan sepsis atau kegagalan fungsi organ tubuh, sehingga dapat menjadi kondisi darurat yang mengancam nyawa (Gyawali et al., 2019). Penanganan pada kasus infeksi *V. parahaemolyticus* dilakukan dengan pemberian antibiotik kloramfenikol, namun memiliki efek samping berupa neurotoksisitas dan gangguan pada darah (Dinos et al., 2016). Infeksi dari bakteri *E. coli* dan *V. parahaemolyticus* timbul disertai dengan gejala, salah satunya adalah peradangan atau inflamasi.

Inflamasi merupakan respon pertahanan tubuh terhadap zat asing yang dianggap berbahaya yang ditandai dengan timbulnya ruam disertai nyeri, rasa terbakar, gatal, dan kesemutan (Akrom dan Hidayati, 2021). Proses inflamasi dapat berefek lebih jauh, seperti dapat menimbulkan penyakit *rhinitis vasomotor*, *rheumatoid arthritis*, dan arterosklerosis atau radang sendi (Aditya, 2015). Pengobatan yang diberikan dalam menangani inflamasi dan sering diresepkan oleh dokter adalah obat dari golongan *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug* (NSAID), yakni natrium diklofenak. Natrium diklofenak berperan sebagai antiinflamasi melalui penghambatan enzim siklooksigenase, sehingga sintesis prostaglandin menjadi terhambat (Zahra dan Carolia, 2017). Efek samping dari penggunaan NSAID diantaranya, seperti gangguan fungsi ginjal, edema, hipertensi, dan pendarahan pada gastrointestinal (Lovell dan Ernst, 2017).

Penelitian terkait aktivitas antibakteri dan dari genus *Sargassum* menjadi daya tarik bagi banyak peneliti untuk mencari alternatif pengobatan sebagai upaya mengurangi efek samping penggunaan obat sintetik. Beberapa penelitian terkait ekstrak etil asetat dari genus *Sargassum* menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik terhadap *E. coli*. Ekstrak *Sargassum cinereum* dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terbaik daripada ekstrak lainnya (*n*-heksana dan metanol) dengan zona hambat sebesar 5,08 mm (Alamsyah et al., 2014). Aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yang dilakukan oleh Naibaho (2011) menyimpulkan bahwa ekstrak

etil asetat *S. polycystum* memiliki kemampuan penghambatan yang baik dibanding ekstrak *n*-heksana dan etanol pada konsentrasi 50 mg/mL dengan diameter zona hambat sebesar 14,78 mm. Selain terhadap bakteri *E. coli*, ekstrak etil asetat dari genus *Sargassum* juga memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri dari genus *Vibrio*. Penelitian yang dilakukan oleh Riyanto et al. (2014) menyimpulkan bahwa ekstrak etil asetat *S. polycystum* memiliki aktivitas terhadap bakteri *Vibrio harveyi* yang paling baik dibanding ekstrak lainnya (ekstrak *n*-heksana dan metanol) dengan diameter zona hambat sebesar 1,67 mm.

Ekstrak etil asetat dari genus *Sargassum* juga dilaporkan memiliki aktivitas yang baik sebagai antiinflamasi. Penelitian terkait ekstrak etil asetat *Sargassum wightii* diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi terbaik dibanding ekstrak *n*-heksana dan metanol pada konsentrasi 50 µg/mL dengan nilai penghambatan albumin sebesar 70,8% (Pramitha dan Kumari, 2016). Penelitian lainnya menunjukkan aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etil asetat *Sargassum vulgare* dengan persen penghambatan terhadap enzim COX-1 dan COX-2 secara berturut-turut sebesar 77,89 dan 88,35% (Shreadah et al., 2018).

Penelitian-penelitian yang telah dilaporkan menunjukkan bahwa genus *Sargassum* memiliki aktivitas yang potensial, baik sebagai antibakteri maupun antiinflamasi khususnya pada ekstrak etil asetat. Efektivitas ekstrak etil asetat disebabkan karena pelarut ini mampu menarik senyawa-senyawa dengan berbagai polaritas karena tergolong ke dalam pelarut semi polar. Pelarut semi polar seperti etil asetat mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, glikon, dan glikosida (Hidayah et al., 2016).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan senyawa tunggal (isolat) dari ekstrak etil asetat *S. polycystum*. Bioaktivitas dari etil asetat *S. polycystum* dan isolat diuji sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *V. parahaemolyticus*, serta uji antiinflamasi secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan memaksimalkan pemanfaatan bahan alam khususnya *S. polycystum* untuk penelusuran kandidat obat baru yang efektif.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang ditemukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. bagaimana profil fitokimia dari ekstrak etil asetat *S. polycystum*?
2. bagaimana karakteristik isolat yang didapatkan dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* berdasarkan analisis data spektroskopi?
3. bagaimana aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat dan senyawa kimia yang diisolasi dari ekstrak *S. polycystum* terhadap bakteri *E. coli* dan *V. parahaemolyticus*?
4. bagaimana aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etil asetat dan senyawa kimia yang diisolasi dari ekstrak *S. polycystum*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini, yaitu:

1. menentukan profil fitokimia dari ekstrak etil asetat *S. polycystum*.
2. mengidentifikasi isolat yang didapatkan dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* melalui data spektroskopi.
3. menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat yang didapatkan berdasarkan diameter zona hambat.
4. menganalisis aktivitas antiinflamasi dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat yang didapatkan berdasarkan nilai IC₅₀.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini, yaitu:

1. menginformasikan terkait golongan senyawa apa saja yang terkandung dalam ekstrak etil asetat *S. polycystum*.
2. menginformasikan terkait karakteristik senyawa kimia yang berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* berdasarkan data spektroskopi.
3. memberikan data terkait kemampuan ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat sebagai antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus* dalam bentuk nilai diameter zona hambat.
4. memberikan data terkait kemampuan ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat sebagai antiinflamasi dalam bentuk nilai IC₅₀.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu alga coklat *S. polycystum* yang berasal dari Kepulauan Selayar, *n*-heksana teknis, etil asetat teknis, aseton teknis, metanol teknis, reagen Meyer (Nitro Kimia), reagen Wagner (Nitro Kimia), reagen Dragendorff (Nitro Kimia), FeCl₃ 10%, serbuk magnesium (Merck), HCl pekat (Merck), Pb(CH₃COO)₃ (Merck), kloroform p.a (Merck), larutan CeSO₄, aluminium foil, plat kromatografi lapis tipis (KLT) (Merck Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,25 mm), silika gel 60 (Merck, No. Katalog 7730), pipa kapiler, kertas saring Whatman No. 42, CH₃COOH glasial (Merck), NaCl (Merck), bakteri *E. coli*, bakteri *V. parahaemolyticus*, *Tris Base* (Merck), *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Merck), natrium diklofenak (Generik), *paper disk* diameter 6 mm, *Nutrient Agar* (NA) (Merck), *Nutrient Broth* (Merck), ciprofloxacin (Generik), kloramfenikol (Generik), *Mueller Hinton Agar* (Merck), spiritus, BaCl₂ 1%, plastik *wrapped*, DMSO (Merck), dan tisu.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium, *rotary evaporator* (Hanshin), timbangan, neraca analitik (Ohaus), *chamber*, toples kaca, corong *Buchner*, pompa vakum, seperangkat alat destilasi fraksinasi, lampu UV 245 dan 365 mm, alat *melting point*, ayakan 60 *mesh*, tabung reaksi, ose, pipa kapiler, penotol, *petri disk*, mikropipet, tip mikropipet, jangka sorong (Mitoyoto CNC, 0-150 mm), pinset, oven (Memmert), inkubator (Memmert), *water bath*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *magnetic bar*, autoklaf, *Laminar Air Flow*, spektrofotometer *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR, Shimadzu 8501), densitometer McFarland (Biosan, DEN-1B), oven (Memmert), seperangkat alat Kromatografi Kolom Vakum (KKV), seperangkat alat Kromatografi Kolom Tekan (KKT), seperangkat alat Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), plat kaca 20 x 20 cm, pH meter (OneMed), dan Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), .

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Desember 2023 dan berakhir pada bulan Juli 2024 bertempat di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains (LPPS), Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK), Kota Makassar. Pengujian aktivitas antiinflamasi dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Analisis FTIR dilakukan di Laboratorium Terpadu Departemen Kimia, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi dan Identifikasi Sampel

Sampel alga coklat dari genus *Sargassum* sebanyak 20 kg yang diperoleh dari Dusun Boneria, Desa Barat Lambongan, Kecamatan Bontomatene, Kabupaten Kepulauan Selayar pada titik koordinat 5°54'59,45"LS dan 120°26'43,98"BT. Sampel tersebut dicuci dengan air mengalir hingga bersih yang selanjutnya disisihkan sedikit untuk pengiriman identifikasi sampel. Sampel yang tidak termasuk dalam pengiriman identifikasi spesimen dilanjutkan untuk dikering-anginkan, lalu dihaluskan menggunakan *blender*. Serbuk kasar yang didapatkan diayak menggunakan ayakan 60 mesh hingga diperoleh serbuk halus.

2.4.2 Ekstraksi Sampel

Sampel *Sargassum polycystum* (*S. polycystum*) dalam bentuk serbuk diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat yang dilakukan beberapa kali selama 1 x 24 jam sambil sesekali diaduk, kemudian disaring menggunakan corong *Buchner* dengan bantuan pompa vakum, sehingga diperoleh filtrat dan residu (Arel dan Ningsih, 2022). Penggantian pelarut atau penghentian proses ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan dengan kontrol KLT, yaitu ketika filtrat hasil maserasi berulang (maserat) memiliki noda yang tak berarti atau membandingkan noda hasil KLT maserat pada hari pertama, kedua, dan seterusnya. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga kering. Ekstrak kering yang diperoleh kemudian dianalisis dengan KLT untuk memilih ekstrak yang tepat yang akan digunakan pada tahap fraksinasi.

2.4.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak 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. Campuran tersebut dihomogenkan, lalu diamati perubahan yang terjadi. Hasil positif apabila tabung I terbentuk endapan putih, sementara tabung II serta III terbentuk endapan merah bata (Khafid et al., 2023).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,05 mg dan HCl pekat sebanyak 1 mL, kemudian dihomogenkan secara cepat dan kuat. Hasil positif dari uji ini ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah, jingga, atau hijau (Putri dan Lubis, 2020).

c. Uji Tanin

Larutan FeCl_3 10% ditambahkan 2-3 tetes ke dalam tabung reaksi yang berisi 1 mL ekstrak. Hasil positif ditandai dengan adanya warna hijau kebiruan atau hijau gelap (Monongko et al., 2020).

d. Uji Triterpenoid, Steroid, dan Terpenoid

Ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL kloroform, ditambahkan 0,5 mL anhidrida asetat, ditambahkan 2 mL H_2SO_4 . Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid, sedangkan warna merah menandakan terpenoid (Goa et al., 2021).

e. Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ekstrak tersebut lalu ditambahkan akuades (1:1) sambil dikocok kuat selama 30 detik. Hasil positif jika busa yang terbentuk stabil dengan ketinggian kurang lebih 1 cm (Yuda et al., 2017)

2.4.4 Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom

Ekstrak dipisahkan komponen senyawanya menggunakan kromatografi kolom vakum (KKV) dan Kromatografi kolom tekan (KKT). Eluen yang digunakan adalah eluen yang diperoleh melalui metode *trial and error* uji KLT terhadap fraksi etil asetat. Hasil elusi ditampung sebagai fraksi-fraksi. Fraksi-fraksi ini kemudian diuji KLT untuk mengetahui komponen di dalam fraksi-fraksi tersebut. Fraksi yang memiliki profil KLT yang sama kemudian digabungkan menjadi fraksi yang sama.

2.4.5 Pemurnian

Isolat hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom tekan 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

a. Penentuan Titik Leleh

Penetapan titik leleh dengan alat *melting point* dilakukan dengan mengikuti prosedur yang telah dilakukan oleh (Amalia et al., 2020) dengan cara kristal dimasukkan ke dalam pipa kapiler yang salah satu ujungnya tertutup, kemudian diketuk-ketuk hingga kristal mampat. Pipa kapiler dijatuhkan secara vertikal dengan ujung terbuka menghadap ke atas menggunakan pipa kaca hingga isolat memadat pada ujung pipa kapiler bagian bawah yang tertutup. Pipa kapiler kemudian dimasukkan ke dalam alat *melting point* dan suhu dinaikkan perlahan lahan yaitu 1°C tiap menit. Titik leleh

ditandai pada saat kristal mulai meleleh hingga kristal meleleh sempurna. Senyawa dikatakan murni apabila memiliki titik leleh dengan rentang $\pm 2^\circ\text{C}$.

b. Penentuan Struktur Kimia

Isolat murni yang diperoleh ditentukan struktur kimianya dengan menganalisis isolat tersebut menggunakan Spektrofotometer *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Spektrofotometer FTIR digunakan untuk menentukan adanya gugus fungsi (-OH, -CO, amina, aromatik, dan lain sebagainya) dalam struktur kimia. Karakterisasi isolat dengan spektrofotometer inframerah dilakukan dengan cara mencampur isolat dengan KBr menggunakan alat *mixture vibrator* (Mberato et al., 2020). Campuran tersebut kemudian dicetak menjadi pelet dan dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer inframerah lalu diukur spektrum inframerah pada bilangan gelombang $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ (Sulistiyani dan Huda, 2017).

2.4.7 Pengujian Antibakteri pada *Escherichia coli*

a. Pembuatan Media Agar Miring

Nutrient Agar (NA) sebanyak 2,8 g dilarutkan ke dalam 100 mL akuades menggunakan erlenmeyer. Larutan tersebut dihomogenkan dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian ditunggu sampai suhu turun menjadi 40°C . Media tersebut dituangkan pada tabung reaksi dengan kemiringan 30° dan ditunggu hingga memadat. Pengerjaan tersebut dilakukan di dalam *laminar air flow*. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri (Pinta 2017).

b. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Nutrient Agar (NA) ditimbang sebanyak 8,4 g, lalu ditambahkan 300 mL akuades di dalam erlenmeyer, kemudian ditutup menggunakan *aluminium foil*. Larutan tersebut dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* hingga mendidih yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi kuning jernih. Larutan media tersebut disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian ditunggu sampai suhu turun menjadi 40°C . Media steril tersebut dituang secara aseptik pada cawan petri steril sebanyak ± 20 mL dan ditunggu hingga media memadat (Zamilah et al., 2020). Penuangan media dilakukan di *dalam laminar air flow*.

c. Peremajaan Bakteri

Bakteri *Escherichia coli* dari inokulum murni diremajakan pada media agar miring dengan terlebih dahulu mensterilkan jarum ose dengan spiritus, kemudian diambil bakteri sebanyak 1 ose, selanjutnya digoreskan secara aseptik pada media NA miring. Media NA miring tersebut ditutup kembali dengan kapas dan plastik *wrapped*. Media selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam (Fazriati et al., 2020).

d. Pembuatan Standar Skala Mc. Farland 0,5

Larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan BaCl_2 1% sebanyak 0,05 mL, kemudian dihomogenkan. Campuran tersebut merupakan suspensi standar Mc. Farland 0,5 yang sebanding dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL (Wardaniati dan Gusmawarni, 2021).

e. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji (Inokulum)

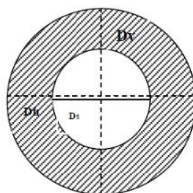
Bakteri uji yang telah diremajakan masing-masing diambil sebanyak 1 ose dengan jarum ose steril, lalu dimasukkan ke dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% dan dihomogenkan, kemudian disamakan kekeruhannya dengan standar Mc. Farland 0,5 yang telah dibuat (Rizki et al., 2022).

f. Uji Aktivitas Antibakteri pada *Escherichia coli*

Inokulum bakteri (inokulum aktif) diambil sebanyak 100 μL ke dalam cawan petri steril, selanjutnya dituangkan media NA steril ke dalam cawan petri yang berisi biakan aktif bakteri dan digerakkan membentuk angka 8 secara perlahan hingga merata, kemudian ditunggu hingga media memadat (Josua et al., 2021). *Paper disk* direndam ke dalam larutan kontrol negatif, kontrol positif, sampel uji ekstrak (10, 100, dan 1000 ppm), dan isolat (10, 100, dan 1000 ppm) selama 30 menit agar ekstrak bisa menyerap ke dalam *paper disk* diameter 6 mm. *Paper disk* yang telah direndam kontrol dan larutan sampel uji diambil, dikeringkan-anginkan, lalu ditempatkan secara aseptik pada permukaan media yang telah memadat dengan jarak yang sesuai dan tidak saling berdekatan sekitar 3 cm dan jarak tepi media 2 cm. Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk nantinya diukur daya hambatnya (Nurrosyidah et al., 2021).

g. Pengamatan Zona Hambat Antibakteri

Pengamatan zona hambat dari aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dilakukan setelah 1 x 24 jam masa inkubasi. Zona bening menunjukkan kepekaan bakteri terhadap sifat antibakteri dari larutan uji dan dinyatakan dengan diameter zona hambat. Zona hambat yang terbentuk diukur diameter vertikal dan diameter horizontalnya menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm) seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Ilustrasi pengukuran diameter zona hambat (Magvirah et al., 2019)

Pengukuran diameter zona hambat dapat diukur menggunakan rumus sebagai berikut (Magvirah et al., 2019):

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(Dv-Ds) + (Dh-Ds)}{2} \quad (1)$$

Keterangan:

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

Ds = Diameter *paper disk*

2.4.8 Pengujian Antibakteri pada *Vibrio parahaemolyticus*

a. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Bubuk *Mueller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 4,08 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan penambahan NaCl 2,5% steril sebanyak 120 mL. Larutan tersebut dipanaskan hingga homogen di atas *hot plate*, lalu disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C masing-masing sebanyak ± 30 mL dan dilakukan di dalam *laminar air flow*. Media pada cawan petri kemudian ditunggu hingga memadat selama ± 30 menit (Alfajri et al., 2018).

b. Pembuatan Larutan Suspensi

Biakan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* diambil sebanyak 1 ose, lalu disuspensikan ke dalam NaCl 0,9% sebanyak 40 mL. Larutan suspensi dihomogenkan menggunakan *vortex* lalu diukur kekeruhan suspensi bakteri uji sesuai dengan standar McFarland 0,5 atau sebanding dengan jumlah bakteri 10⁸ (CFU)/mL menggunakan alat densitometer Mc Farland (Kurnia et al., 2020).

c. Preparasi Media Siap Uji

Larutan suspensi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan kekeruhan McFarland 0,5 diambil menggunakan swap steril. Swap steril dicelupkan ke dalam larutan suspensi tersebut, kemudian diusapkan pada media MHA dengan cara garis menggaris, rapat, dan sejajar. *Petri disk* diputar 60° dan dilakukan penggoresan yang sama sebanyak 4 kali hingga terjadi penyebaran biakan bakteri yang merata ke seluruh permukaan media MHA. Media tersebut didiamkan selama 5 menit untuk mengeringkan biakan bakteri (Alfajri et al., 2018).

d. Pengujian Antibakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus*

Pengujian ini dilakukan di dalam *laminar air flow* dengan cara *paper disk* (6 mm) ditetesi larutan kontrol negatif, kontrol positif (kloramfenikol), dan larutan sampel uji (10; 100; dan 1000 ppm) sebanyak 20 µL. *Paper disk* ditunggu ±15 menit hingga kering atau pelarut menguap sempurna. *Paper disk* yang telah kering diletakkan di

atas media MHA siap uji, lalu ditunggu sesaat hingga *paper disk* benar-benar menempel pada media MHA. Media MHA tersebut diinkubasi di dalam inkubator bersuhu 37°C selama 24 jam (Rohmatika et al., 2023). Zona hambat yang terbentuk pada media agar diukur menggunakan jangka sorong. Pengukuran zona hambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dilakukan seperti prosedur pada poin 2.4.7 (g).

2.4.9 Pengujian Antiinflamasi Metode Denaturasi Protein

a. Pembuatan Larutan *Tris Buffer Saline* (TBS)

Tris base ditimbang sebanyak 605 mg dan NaCl 4,35 gram, kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 250 mL, lalu pH distabilkan dengan penambahan asam asetat glasial hingga pH patologis 6,2 - 6,5 yang diukur menggunakan pH meter. Penambahan akuades dicukupkan hingga 500 mL apabila pH larutan telah berubah menjadi 6,2 - 6,5 (Reynaldi dan Yani, 2021).

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

Bubuk BSA ditimbang sebanyak 0,2 gram, lalu dilarutkan sedikit dengan larutan TBS. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu dicukupkan dengan larutan TBS hingga tanda batas labu ukur (Novika et al., 2021).

c. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Pembuatan larutan kontrol negatif dilakukan dengan mengikuti prosedur oleh Fadlilaturrahmah et al. (2022) dengan modifikasi larutan kontrol negatif menggunakan BSA 0,2% sebanyak 5 mL.

d. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Pembuatan larutan kontrol positif dilakukan dengan mengikuti prosedur oleh Tukiran et al. (2023) dengan modifikasi pada konsentrasi larutan kontrol positif. Larutan kontrol positif dibuat dengan 3 mg natrium diklofenak yang dilarutkan dalam 3 mL DMSO, sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk kontrol positif sebesar 5000 ppm. Larutan induk tersebut diencerkan kembali menjadi larutan dengan deret konsentrasi 31,25; 125; dan 500 ppm. Masing-masing dari deret tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL menggunakan mikropipet dan ditambahkan dengan larutan BSA 0,2% hingga volumenya menjadi 5 mL, sehingga didapatkan larutan kontrol positif dengan konsentrasi 3,125; 12,5; dan 50 ppm.

e. Pembuatan Larutan Ekstrak dan Isolat

Pembuatan larutan ekstrak dilakukan dengan mengikuti prosedur oleh Tukiran et al. (2023) dengan modifikasi pada konsentrasi larutan ekstrak. Pembuatan larutan ekstrak dibuat dengan cara ekstrak ditimbang sebanyak 30 mg, lalu dilarutkan dengan DMSO sebanyak 3 mL, sehingga didapatkan konsentrasi larutan

induk sebesar 10.000 ppm. Larutan tersebut kemudian diencerkan kembali menjadi larutan dengan deret konsentrasi 500, 1000, dan 2000 ppm. Larutan ekstrak dengan konsentrasi tersebut diambil masing-masing sebanyak 0,5 mL menggunakan mikropipet, lalu ditambahkan larutan BSA 0,2% hingga volumenya menjadi 5 mL, sehingga didapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi akhir 50, 100, dan 200 ppm. Pembuatan larutan uji isolat dilakukan dengan cara isolat ditimbang sebanyak 1 mg, lalu dilarutkan dalam 1 mL DMSO, sehingga didapatkan larutan induk sebesar 1000 ppm. Larutan tersebut diencerkan menjadi larutan dengan deret konsentrasi 125, 250, dan 500 ppm. Larutan tersebut diambil masing-masing sebanyak 0,5 mL menggunakan mikropipet, lalu ditambahkan larutan BSA 0,2% hingga volumenya menjadi 5 mL, sehingga didapatkan larutan isolat dengan konsentrasi akhir 12,5; 25; dan 50 ppm.

f. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi Metode Denaturasi Protein

Setiap sampel uji (larutan kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak, dan isolat) diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit, kemudian dipanaskan selama 5 menit pada suhu 70°C dan didinginkan selama 25 menit pada suhu ruang (25-35 °C). Larutan dihomogenkan dengan vortex dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 660 nm (Farida et al., 2018; Mulyani et al., 2023). Persentase daya hambat (%) terhadap denaturasi protein diukur menggunakan persamaan 1.

$$\text{Daya hambat (\%)} = \frac{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi larutan uji}}{\text{absorbansi kontrol negatif}} \times 100\% \quad (2)$$

Senyawa yang dapat menghambat denaturasi protein dengan nilai persentase lebih dari 20% dapat dikatakan memiliki aktivitas antiinflamasi (Novika et al., 2017).

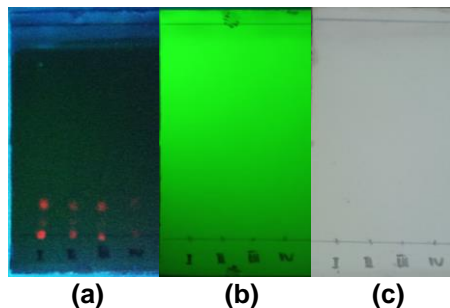
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Identifikasi dan Preparasi Sampel

Hasil identifikasi sampel yang dikeluarkan oleh Pusat Riset Oseanografi LIPI menunjukkan bahwa sampel tersebut merupakan *Sargassum polycystum* C. Agardh (*S. polycystum*). Sampel *S. polycystum* dicuci dan dikeringkan untuk dihaluskan hingga menjadi serbuk kasar. Serbuk kasar *S. polycystum* diayak hingga didapatkan serbuk halus, lalu serbuk halus alga coklat *S. polycystum* ditimbang dan diperoleh bobot serbuk halus sebanyak 2,4 kg.

3.2 Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi senyawa kimia dari sampel alga coklat (*S. polycystum*) dilakukan melalui ekstraksi dingin dengan metode maserasi bertingkat, yaitu dengan cara merendam serbuk halus sampel selama 24 jam yang dilakukan secara berulang. Metode maserasi bertingkat dapat menghasilkan ekstrak cair sesuai dengan kepolaran pelarut yang digunakan, sehingga dapat lebih mudah mengelompokkan tingkat kepolaran senyawa terekstrak berdasarkan pelarut yang digunakan (Nuzul et al., 2018). Pelarut yang digunakan untuk maserasi bertingkat, yakni *n*-heksana dan etil asetat. Pelarut *n*-heksana akan menarik senyawa nonpolar, sedangkan pelarut etil asetat menarik senyawa semi polar (Maharany et al., 2017). Maserasi bertingkat juga sering digunakan untuk mengekstraksi kandungan senyawa pada sampel karena metode ini aman untuk senyawa yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat termolabil (Azwanida, 2015).



Gambar 2. Profil KLT maserat 1-4 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana (1:9)

Penghentian maserasi bertingkat dilakukan dengan pengamatan kontrol KLT (Fasya et al., 2020). Proses maserasi dengan kontrol KLT dihentikan apabila noda yang tampak pada plat yang disinari lampu UV telah memudar dibanding maserat pada hari-hari sebelumnya (Gambar 2). Filtrat lalu dipekatkan menggunakan *rotary*

evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat (Sami et al., 2019). Hasil ekstraksi *S. polycystum* yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi *S. polycystum*

No	Ekstrak	Berat sampel (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1	<i>n</i> -heksana	2400	6,1700	0,25
2	Etil asetat	2392	12,0046	0,50

Berdasarkan data hasil ekstraksi tersebut, ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan persen rendemen yang lebih tinggi, yakni sebesar 0,50% dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksana, yaitu sebesar 0,25%. Hal tersebut disebabkan karena komponen senyawa yang terkandung pada *S. polycystum* kebanyakan merupakan senyawa yang bersifat semi polar. Komponen senyawa yang terkandung akan terekstraksi pada pelarut yang memiliki kepolaran yang sama dengan komponen senyawa yang diekstraksi (Sampulawa dan Bahalwan, 2022).

3.3 Identifikasi Golongan Senyawa Kimia

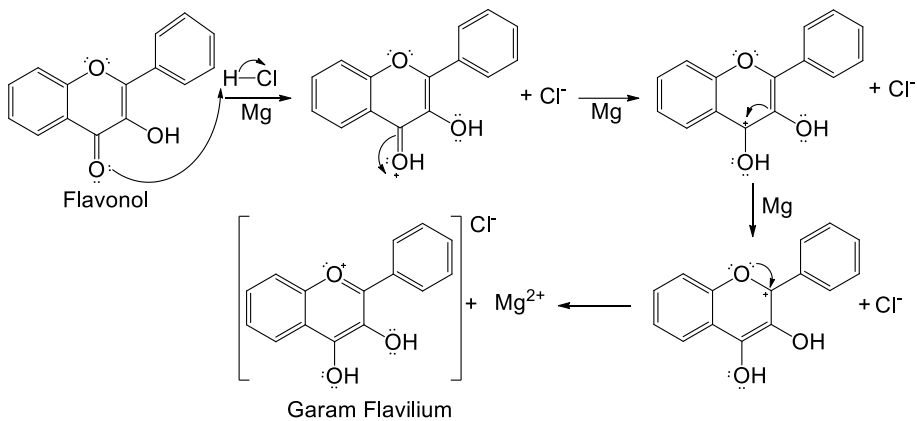
Identifikasi golongan senyawa dilakukan untuk memberikan informasi terkait kandungan metabolit yang terdapat dalam ekstrak (Hasibuan et al., 2020). Identifikasi golongan senyawa dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* (Lampiran 14) meliputi uji terhadap golongan senyawa alkaloid, tannin dan fenolik, steroid dan terpenoid, flavonoid, serta saponin dengan hasil uji seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa kimia *S. polycystum*

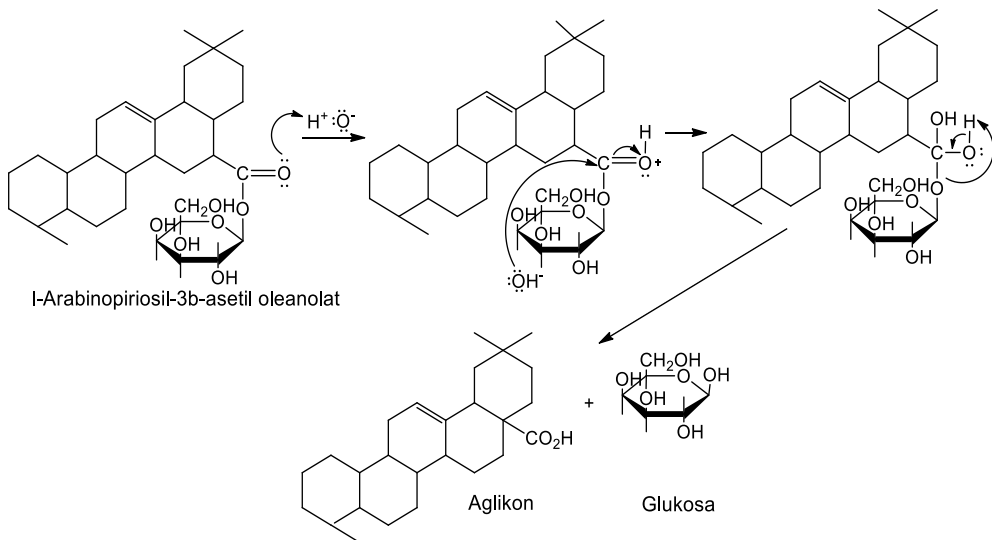
Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Uji Ekstrak Etil Asetat
Alkaloid	Dragendorff	-
	Mayer	-
	Wagner	-
Tanin/fenolik	FeCl ₃ 10%	-
Steroid/terpenoid	CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄	+
Flavonoid	Serbuk Mg + H ₂ SO ₄	+
Saponin	Akuades	+

Hasil pengujian terhadap identifikasi golongan senyawa kimia dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* menunjukkan hasil positif untuk golongan senyawa alkaloid, steroid, dan flavonoid. Hasil uji tersebut sejalan dengan penelitian yang dilaporkan oleh Arsianti et al. (2020), bahwa ekstrak etil asetat *S. polycystum* mengandung senyawa golongan flavonoid dan steroid. Penelitian oleh Akbar et al. (2022) juga menunjukkan hasil positif pada senyawa golongan saponin dan steroid pada ekstrak etil asetat *S. polycystum*. Selain itu, Sarni et al. (2019)

menyimpulkan bahwa ekstrak etil asetat *S. polycystum* positif mengandung senyawa golongan steroid.



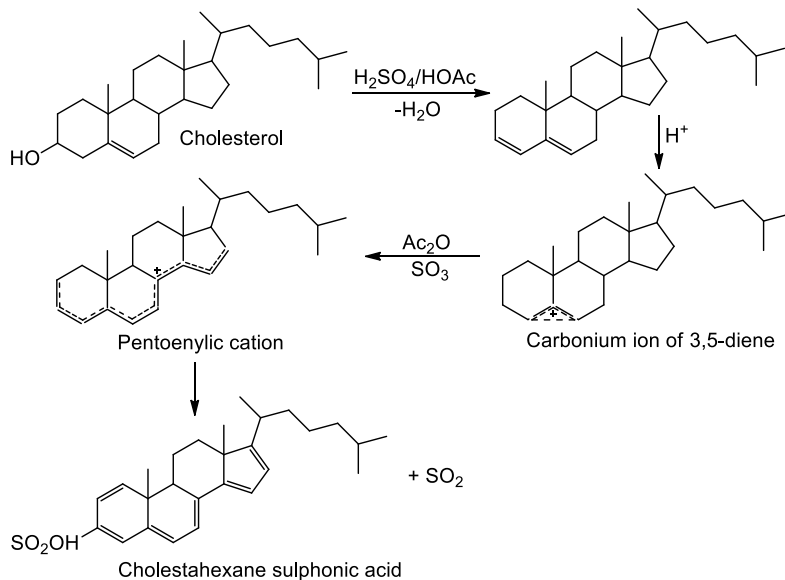
Gambar 3. Reaksi senyawa flavonol dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Nuraeni dan Wida, 2021).



Gambar 4. Reaksi senyawa saponin dengan akuades (Illing et al., 2017).

Hasil positif pada uji flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna. Menurut Setiabudi dan Tukiran (2017), perubahan warna menjadi jingga disebabkan karena senyawa flavonoid dioksidasi oleh Mg^{2+} , sehingga terbentuk kompleks dengan ion magnesium. Perubahan warna lainnya menjadi merah dan kuning disebabkan karena polihidroksi dari flavonon direduksi oleh magnesium dalam asam klorida, sehingga membentuk garam benzopirilium atau flavilium dengan reaksi seperti pada Gambar 3. Sementara itu, hasil positif pada uji saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil. Senyawa saponin

mengandung senyawa polar yang larut dalam air (hidrofilik) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (hidrofobik). Gugus hidrofilik pada senyawa saponin akan berikatan dengan air, sedangkan gugus hidrofobik akan berikatan dengan udara, sehingga terbentuk busa pada saat dikocok dengan kuat (Nurzaman et al., 2018). Timbulnya busa menunjukkan adanya glukosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Gambar 4). Pada uji steroid, hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau biru. Reaksi yang terjadi antara steroid dengan asam asetat anhidrat adalah asetilasi gugus hidroksil pada steroid (Gambar 5). Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan membentuk turunan asetil, sedangkan penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil membentuk larutan berwarna. Proses oksidasi yang terjadi pada senyawa steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan perubahan warna (Sulistyarini et al., 2020).



Gambar 5. Reaksi steroid dengan pereaksi Liebermann-Buchard (Li et al., 2019)

3.4 Isolasi dan Pemurnian

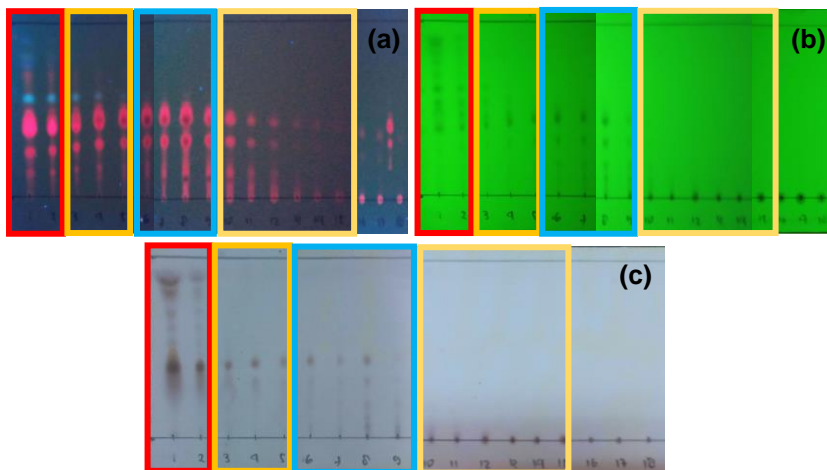
Isolasi senyawa dilakukan melalui proses fraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom. Proses ini dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam ekstrak menjadi kelompok senyawa yang terpisah berdasarkan kepolaran eluen yang digunakan pada saat kromatografi kolom (Fasya et al., 2018). Kromatografi kolom bekerja dengan prinsip perbedaan daya absorpsi dari setiap senyawa yang akan dipisahkan. Senyawa polar terikat kuat pada fasa diam (*silica gel*), sehingga akan turun lebih lambat, sedangkan senyawa nonpolar lebih lemah diserap yang menyebabkan akan turun lebih cepat (Syahmani et al, 2017).

Fase diam pada fraksinasi metode kromatografi kolom vakum (KKV) menggunakan silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak berupa kombinasi pelarut (eluen). Bobot ekstrak sebesar 12 g diimpregnasi dengan silika gel 60 (0,2-0,5 mm). Perbandingan bobot silika untuk impregnasi dua kali lebih banyak dibanding dengan bobot sampel, yakni 2:1 (Syamsudin et al., 2022). Kombinasi eluen Rf 0,3 (Gambar 6) yang digunakan merupakan kombinasi dari pelarut etil asetat dan *n*-heksana (0,6:9,4). Nilai Rf tersebut digunakan karena proses elusi tidak terlalu cepat ataupun lambat, sehingga pemisahan akan lebih baik serta efisien dalam penggunaan eluen.

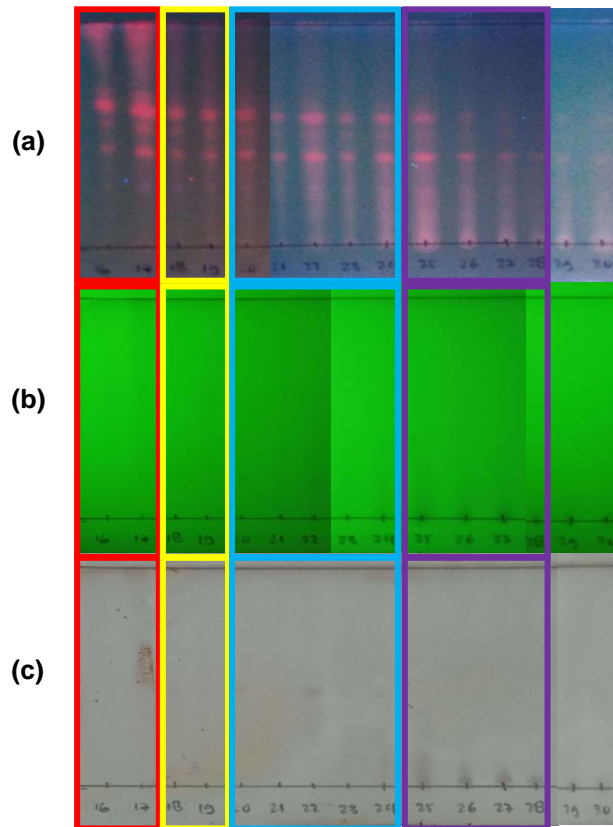


Gambar 6. Profil KLT fraksi 1-18 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c)

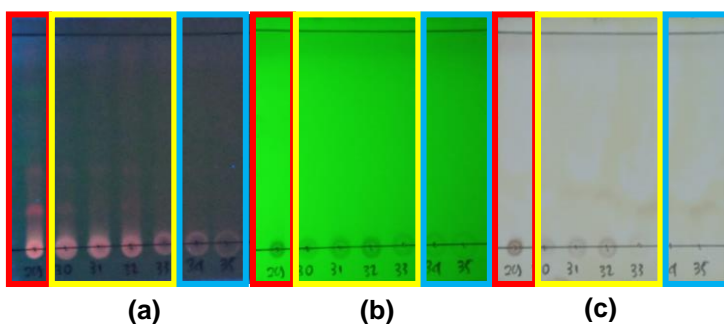
Proses fraksinasi dengan metode KKV dilakukan dengan menaikkan kepolaran eluen secara bertahap (gradien). Kombinasi eluen yang digunakan tertera pada Lampiran 5. Fraksi hasil KKV diuji KLT untuk dilihat profil nodanya, sehingga dapat diketahui garis besar kondisi komponen pada setiap fraksi. Kondisi komponen yang dimaksud seperti banyaknya noda dan kemungkinan adanya senyawa yang sama pada fraksi lainnya, sehingga dilakukan penggabungan fraksi (Muhridja et al., 2016).



Gambar 7. Profil KLT fraksi 1-18 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana (8:2)



Gambar 8. Profil KLT fraksi 16-30 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan eluen aseton, etil asetat, dan *n*-heksana (2,5:3:4,5)

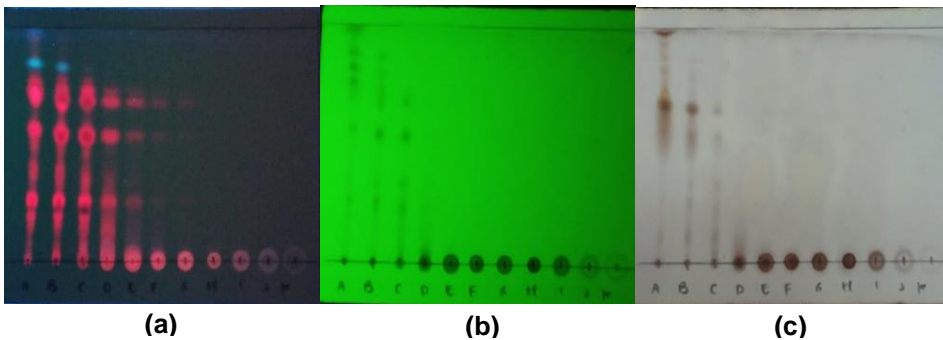


Gambar 9. Profil KLT fraksi 29-35 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan eluen aseton, etil asetat, dan kloroform (1:5:4)

Hasil KLT fraksi hasil KKV pertama didapatkan sebanyak 35 fraksi. Berdasarkan profil noda yang sama (Gambar 7, 8, dan 9), dilakukan penggabungan fraksi. Fraksi

gabungan diperoleh sebanyak 11 fraksi yang diberi kode huruf kapital, sebagai berikut: 1-2 (A); 3-5 (B); 6-9 (C); 10-15 (D); 16-17 (E); 18-19 (F); 20-24 (G); 25-28 (H); 29 (I); 30-33 (J); dan 34-35 (K).

Hasil gabungan fraksi diuji KLT kembali dalam 1 plat yang sama. Hal ini bertujuan untuk mengamati komponen senyawa dari tiap fraksi yang kemudian akan dipilih kembali untuk dilanjutkan pada proses refraksinasi. Berdasarkan hal tersebut, maka dipilih satu fraksi yang dilanjutkan untuk proses refraksinasi yang dilihat dari profil noda dan bobot fraksinya. Profil noda fraksi gabungan dan bobotnya dapat dilihat pada Gambar 10 dan Tabel 3.



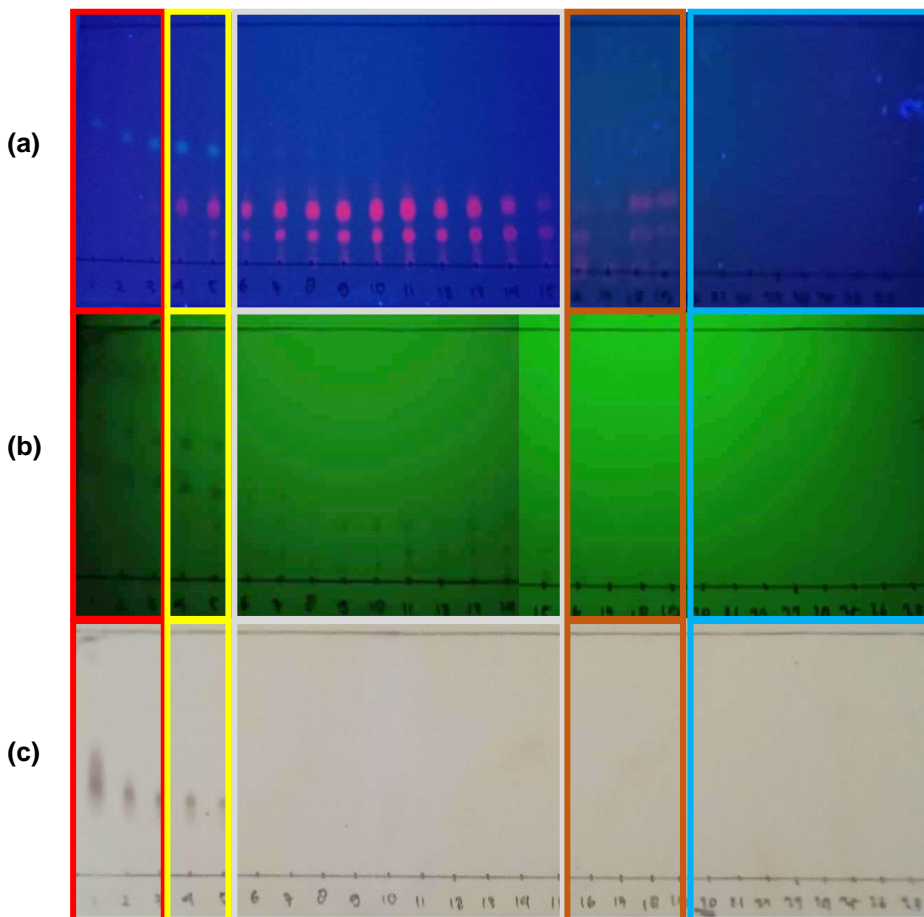
Gambar 10. Profil KLT fraksi A-K di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan etil asetat dan *n*-heksana (8:2)

Tabel 3. Fraksi gabungan KKV pertama beserta bobot setiap fraksi

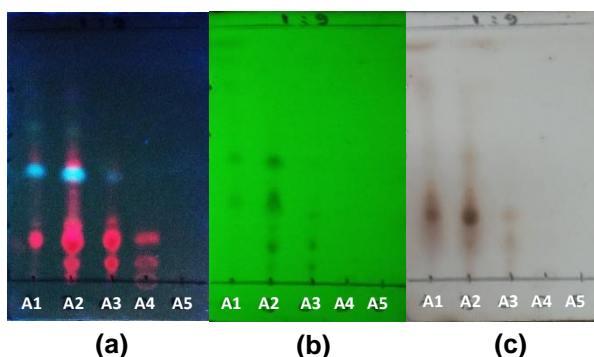
No.	Kode Fraksi	Bobot Fraksi (g)
1.	A	3,7129
2.	B	1,3894
3.	C	1,0576
4.	D	1,0172
5.	E	0,2896
6.	F	0,2493
7.	G	0,2912
8.	H	0,2892
9.	I	0,1486
10.	J	0,7874
11.	K	0,0188

Berdasarkan 2 parameter tersebut, fraksi dengan kode A dipilih karena memiliki bobot terbanyak dan profil noda yang berpotensi mendapatkan isolat. Fraksi A dilanjutkan untuk refraksinasi dengan metode KKV karena mempertimbangkan diameter kolom yang sesuai dengan bobot fraksi. Kombinasi eluen yang digunakan,

yakni sistem eluen gradien (Lampiran 6) dengan kombinasi pelarut etil asetat dan *n*-heksana (0,2: 9,8) untuk noda tertinggi pada Rf 0,3. Pada hasil KKV kedua untuk fraksi A diperoleh sebanyak 27 fraksi. Fraksi tersebut selanjutnya diuji KLT dan dilakukan penggabungan fraksi yang ditinjau berdasarkan profil noda yang tampak sama (Gambar 11). Fraksi 1-3 digabung sebagai A1, fraksi 4-5 digabung sebagai A2, fraksi 6-15 digabung sebagai A3, fraksi 16-19 sebagai A4, dan fraksi 20-27 sebagai A5, sehingga didapatkan sebanyak 5 fraksi gabungan dengan kromatogram seperti pada Gambar 12. Fraksi gabungan tersebut selanjutnya ditimbang untuk dilihat dan dipertimbangkan kembali senyawa yang akan dilanjutkan untuk refraksinasi dengan jumlah bobot yang diperoleh pada setiap fraksi dengan data bobot setiap fraksi tertera pada Tabel 4.



Gambar 11. Profil KLT fraksi A-A5 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana (1,5:8,5)



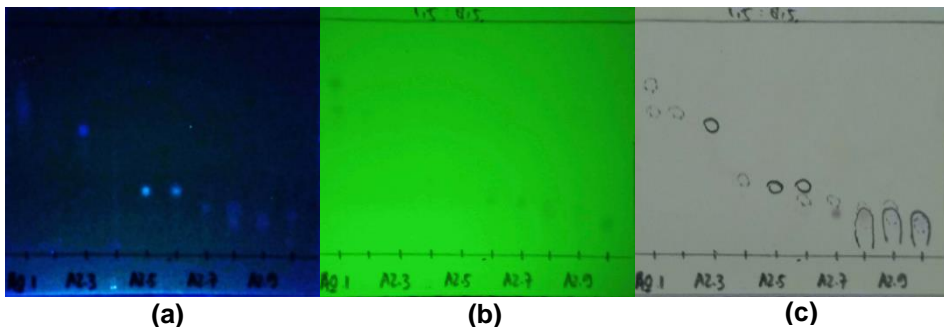
Gambar 12. Profil KLT fraksi A-A5 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana (9:1)

Tabel 4. Kode fraksi hasil KKV pertama beserta bobot setiap fraksi

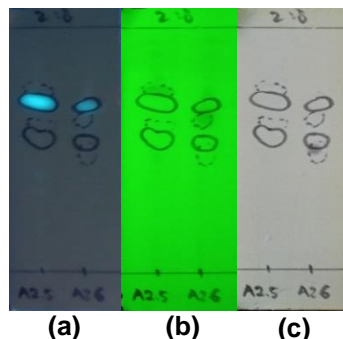
No.	Kode Fraksi	Bobot Fraksi (g)
1.	A1	2,3851
2.	A2	0,1123
3.	A3	0,4170
4.	A4	0,2477
5.	A5	0,6997

Jika diperhatikan dengan seksama, penampakan noda pada fraksi A2 memiliki kemiripan dengan fraksi A1. Selain itu, penampakan noda pada fraksi A1 terlihat lebih sederhana dan memiliki bobot fraksi yang lebih banyak dibandingkan fraksi A2. Walaupun demikian, fraksi A2 memiliki penampakan noda yang lebih dominan dengan intensitas warna noda yang lebih dominan (di bawah lampu UV *short wave*) dibanding fraksi A1. Noda yang dominan mengindikasikan bahwa senyawa yang terkandung pada fraksi tersebut lebih mendominasi dari segi bobotnya. Bobot fraksi A2 diyakini berpotensi untuk mendapatkan isolat murni. Oleh sebab itu, fraksi A2 terpilih untuk kemudian dilanjutkan pada proses refraksinasi.

Fraksi A2 direfraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG) dengan jumlah fraksi hasil sebanyak 10 fraksi yang didapat dari hasil elusi secara gradien (Lampiran 7). Hasil fraksi tersebut diberi kode A2.1 hingga A2.10 dimulai dari fraksi hasil pertama sampai kesepuluh secara berturut turut (Gambar 13). Fraksi A2.5 terlihat memiliki noda yang sama dengan fraksi A2.6 di bawah lampu UV *long wave*, tetapi seperti terdapat noda yang samar pada fraksi A2.6 di bawah lampu UV. Fraksi A2.5 dan A2.6 kemudian diuji KLT kembali pada 1 plat untuk memastikan kembali noda yang terdapat pada masing-masing fraksi tersebut menggunakan kombinasi pelarut etil asetat dan *n*-heksana (2:8). Plat KLT tersebut dielusi sebanyak 2 kali untuk lebih memastikan jumlah noda.



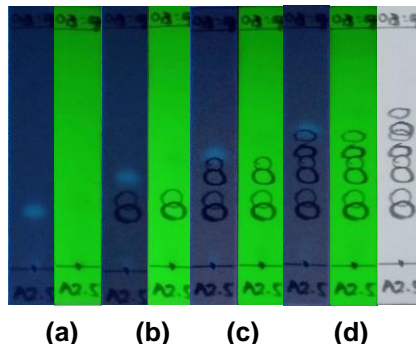
Gambar 13. Profil KLT fraksi A2.1-A2.10 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c) dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana (1,5: 8,5)



Gambar 14. Profil KLT fraksi A2.5-A2.6 di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot CeSO_4 (c)

Hasil kromatogram fraksi A2.5 dan A2.6 (Gambar 14) menunjukkan kedua fraksi tersebut merupakan fraksi yang berbeda. Hal tersebut dapat dilihat dari noda pada fraksi A2.6 di bawah lampu UV *short wave* dan setelah disemprot dengan larutan CeSO_4 . Hasilnya menunjukkan bahwa fraksi A2.5 masih memiliki noda lain yang terletak di bagian atas (di bawah lampu UV *short wave*) noda biru.

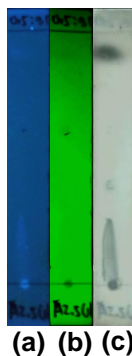
Fraksi A2.5 dipilih untuk direfraksinasi dengan terlebih dahulu mencari kombinasi eluen yang tepat untuk memisahkan senyawa yang terdapat pada fraksi tersebut. Kombinasi eluen yang digunakan untuk pemisahan senyawa pada fraksi A2.5 adalah aseton, etil asetat, dan *n*-heksana (0,3:0,7:9) pada R_f 0,3 yang dielusi sebanyak 4 kali pengulangan (Gambar 15). Pemisahan senyawa pada fraksi A2.5 menggunakan metode elusi secara isokratik. Metode ini menggunakan pelarut dengan komposisi dan perbandingan yang tetap pada proses pemisahannya (Mulidini et al., 2023). Pemilihan metode elusi tersebut dikarenakan selama pencarian eluen, sistem elusi secara gradien tidak menemukan pemisahan dengan perbedaan R_f yang signifikan antara kedua noda yang muncul pada plat KLT tersebut. Pengulangan dengan kombinasi yang sama memiliki kemungkinan akan terjadi pemisahan pada elusi berulang (Supriadin et al., 2017).



Gambar 15. Profil KLT fraksi A2.5 elusi pertama (a), elusi kedua (b), elusi ketiga (c), dan elusi keempat (c)

Pemisahan lanjutan untuk fraksi A2.5 dilakukan dengan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG). Metode ini memiliki keuntungan dapat memisahkan senyawa lebih baik, sehingga cocok digunakan untuk fraksi yang memiliki jarak antar noda (ΔR_f). Metode elusi secara isokratik digunakan karena dinilai mampu memisahkan senyawa yang terkandung pada fraksi tersebut.

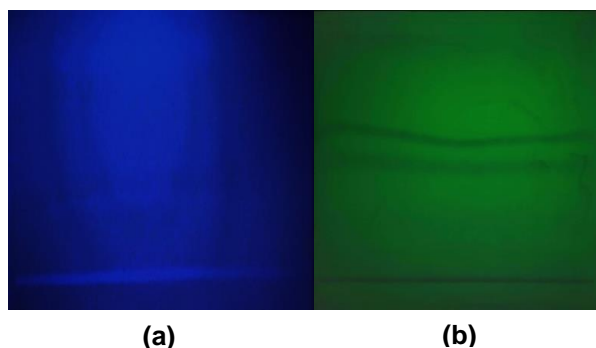
Hasil fraksi KKG A2.5 menghasilkan 2 fraksi yang diberi kode fraksi A2.5(1) dan A2.5(2). Kedua fraksi tersebut merupakan 2 fraksi yang memiliki perbedaan kepolaran yang signifikan, dimana fraksi A2.5(1) lebih cenderung bersifat nonpolar, sementara fraksi A2.5 (2) cenderung bersifat polar. Oleh sebab itu, kedua fraksi tersebut diuji KLT pada plat yang berbeda dengan kombinasi eluen yang berbeda pula pada masing-masing fraksi. Hasil kromatogram pada fraksi A2.5(1) menunjukkan setidaknya terdapat 4 senyawa (Gambar 16) di dalamnya dengan bobot fraksi tersebut sebesar 51,1 mg.



Gambar 16. Profil KLT fraksi A2.5(1) di bawah lampu UV *long wave* (a), di bawah lampu *short wave* (b), dan dipanaskan setelah disemprot $CeSO_4$ (c) dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana (0,5:8,5)

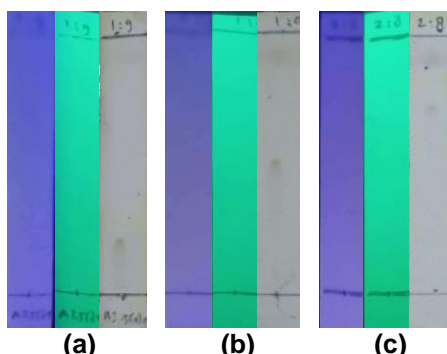
Metode pemisahan yang digunakan untuk memisahkan fraksi A2.5(1) adalah kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Menurut Salatina et al. (2023), metode

KLTP merupakan salah satu teknik pemisahan komponen senyawa menggunakan plat kaca yang dibuat seperti prinsip pada saat melakukan KLT dengan cara mengelusi plat KLTP. Salah satu tujuan metode KLTP, yakni memisahkan komponen-komponen pada sampel untuk mendapatkan komponen tunggal (Hasan et al., 2023). Hasil elusi KLTP fraksi A2.5(1) dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Profil KLT fraksi A2.5(1) di bawah lampu UV *long wave* (a) dan di bawah lampu *short wave* (b) dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana (0,5:8,5)

Berdasarkan noda yang tampak pada plat KLTP, dikumpulkan 5 fraksi hasil yang diberi kode A2.5(1).1 sampai A2.5(1).5. Hasil KLT untuk fraksi dengan kode A2.5(1).4 memiliki profil noda yang tampak tunggal, sehingga fraksi tersebut dilanjutkan untuk diuji kemurniannya melalui plat KLT dengan cara mengelusi fraksi tersebut menggunakan 3 sistem eluen yang berbeda (Gambar 18). Kombinasi eluen yang digunakan adalah kloroform dan *n*-heksana (1:9), etil asetat dan kloroform (1:9), serta aseton dan kloroform (2:8). Masing-masing dari kombinasi eluen tersebut mewakili R_f 0,3; 0,5; dan 0,8 dengan tujuan untuk memastikan senyawa tersebut telah murni. Proses pemurnian isolat A2.5(1).4 dapat dilihat pada Lampiran 8.



Gambar 18. Profil KLT fraksi A2.5(1).4 pada R_f 0,3 (a), R_f 0,5 (b), dan (c) R_f 0,8

Hasil uji kemurnian dengan KLT menunjukkan bahwa fraksi A2.5(1).4 telah murni, sehingga fraksi tersebut dikeringkan dan didapatkan bobot fraksi sebesar

27,2 mg dengan bentuk fraksi berupa kristal berbentuk serbuk berwarna putih. Uji kemurnian dengan uji titik leleh menghasilkan data titik leleh pada rentang suhu 56-58°C. Senyawa dapat dikatakan murni apabila memiliki rentang titik leleh $\leq 2^\circ\text{C}$ (Suryati et al., 2020).

3.5 Karakterisasi Senyawa

Karakterisasi senyawa dari isolat A2.5(1).4 dilakukan dengan uji identifikasi golongan senyawa dengan uji fitokimia dan spektroskopi FTIR.

a. Identifikasi Golongan Senyawa

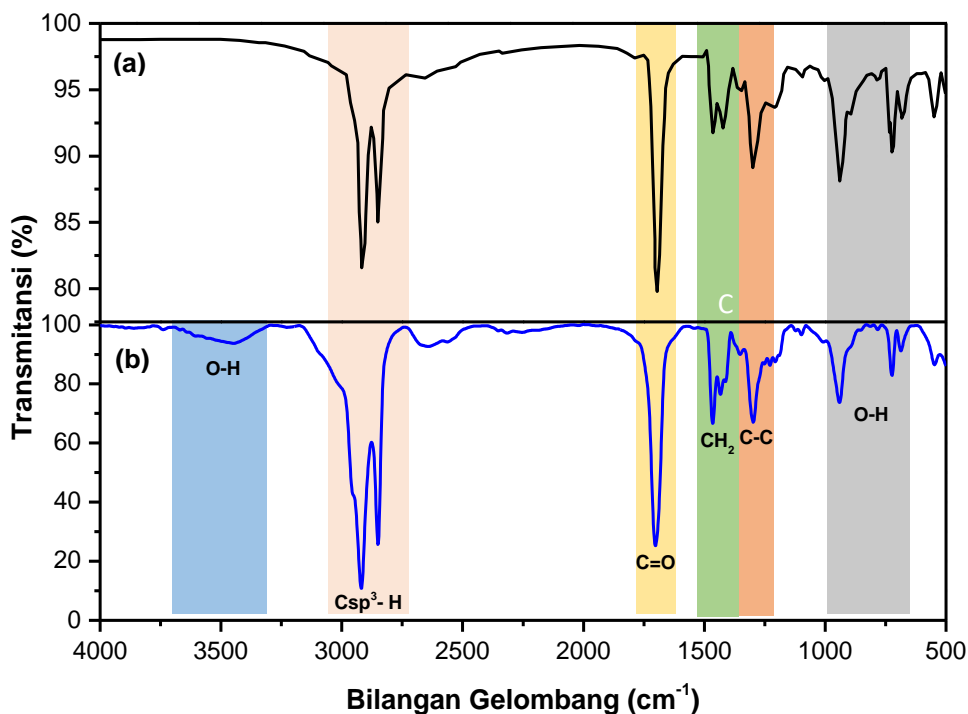
Hasil uji identifikasi golongan senyawa dari isolat A2.5(1).4 yang diisolasi dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* menunjukkan hasil negatif pada semua uji (Tabel 5). Hasil yang ada (Lampiran 14) diindikasikan bahwa isolat A2.5(1).4 tidak termasuk ke dalam senyawa golongan metabolit sekunder.

Tabel 5. Hasil identifikasi senyawa kimia isolat A2.5(1).4

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Uji Ekstrak Etil Asetat
Alkaloid	Dragendorff	-
	Mayer	-
	Wagner	-
Tanin/fenolik	FeCl ₃ 10%	-
Steroid/terpenoid	CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄	-
Flavonoid	Serbuk Mg + H ₂ SO ₄	-
Saponin	Akuades	-

b. Spektroskopi FTIR

Spektroskopi FTIR merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi tanpa merusak sampel uji (Sari et al., 2018). Spektrum FTIR akan menampilkan keseluruhan informasi ikatan dalam suatu molekul yang terdiri atas gerak vibrasi dan rotasi. Spektroskopi FTIR mempelajari interaksi antara molekul dan gelombang elektromagnetik yang muncul dalam bentuk spektrum berupa data pita serapan. Setiap molekul memiliki pita serapan sidik jari yang membuatnya unik, sehingga memungkinkan untuk dibedakan dari molekul lainnya (Fadlilmoula et al., 2022). Spektrum FTIR isolat A2.5(1).4 berupa data pita serapan (Gambar 19) dijabarkan lebih lanjut pada Tabel 6.



Gambar 19. Spektrum FTIR asam palmitat (a) dan isolat A2.5(1).4 (b)

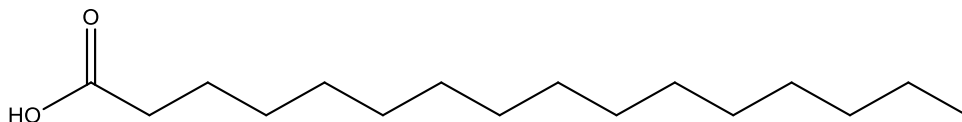
Tabel 6. Bilangan gelombang data FTIR isolat A2.5(1).4

No.	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
		Isolat A2.5(1).4	Asam Palmitat*
1.	Vibrasi ulur O-H	3446,79	Tidak disebutkan
2.	Vibrasi ulur Csp ³ -H	2918,30	2913
3.		2850,79	2848
4.	Vibrasi ulur C=O	1703,14	1695
5.	Vibrasi tekuk Csp ² -H	1465,90	1464
6.		1433,11	1422
7.	Vibrasi tekuk C-C	1298,09	1299
8.	Vibrasi tekuk O-H	941,26	939
9.		723,31	723
10.		686,66	685

*Sumber: Khrishna et al., 2020.

Pita serapan yang terbaca berupa vibrasi ulur untuk ikatan O-H pada panjang gelombang 3446,79 cm⁻¹. Pita serapan lainnya terbaca pada bilangan gelombang 2918,30 dan 2850,79 cm⁻¹ yang merupakan jenis vibrasi ulur untuk ikatan Csp³-H. Pita serapan pada gelombang 1465,90 dan 1433,11 cm⁻¹ terbaca sebagai ikatan Csp²-H dengan jenis vibrasi tekuk, sementara pita serapan pada bilangan gelombang

941,26; 723,31; dan 686,66 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk untuk ikatan O-H. Berdasarkan pita serapan tersebut yang dibandingkan data pita serapan asam palmitat, maka isolat A2.5(1).4 dapat diinterpretasikan sebagai senyawa asam lemak, yakni asam palmitat atau asam heksadekanoat dengan struktur senyawa seperti pada Gambar 20.



Gambar 20. Struktur senyawa isolat A2.5(1).4 berupa asam palmitat

3.6 Pengujian Bioaktivitas sebagai Antibakteri

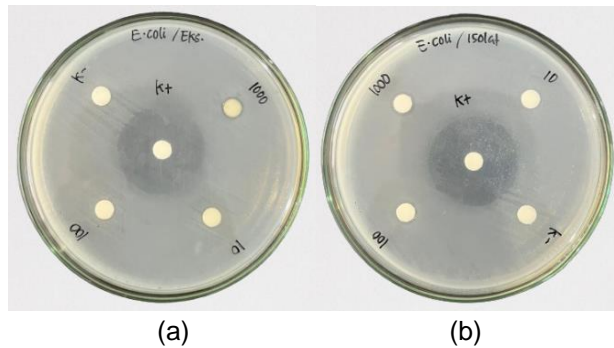
Ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4 diuji bioaktivitasnya sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dengan hasil pengujian seperti pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil pengukuran aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)	Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)
Kontrol negatif (etil asetat)	0	Kontrol negatif (<i>n</i> -heksana)	0
Kontrol positif (ciprofloxacin)	27,86	Kontrol positif (ciprofloxacin)	29,30
Ekstrak etil asetat 10 ppm	6,93	Isolat A2.5(1).4 10 ppm	7,60
Ekstrak etil asetat 100 ppm	7,19	Isolat A2.5(1).4 100 ppm	8,36
Ekstrak etil asetat 1000 ppm	7,21	Isolat A2.5(1).4 1000 ppm	8,53

Hasil pengukuran tersebut menunjukkan diameter zona hambat terkecil dan terbesar untuk ekstrak etil asetat *S. polycystum* secara berturut-turut berada pada konsentrasi 10 ppm dan 1000 ppm dengan nilai zona hambat sebesar 6,93 mm dan 7,21 mm. Begitupun dengan sampel uji isolat A2.5(1).4 yang menunjukkan diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 10 ppm sebesar 7,60 mm dan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 8,53 mm. Data tersebut menunjukkan nilai diameter zona hambat yang semakin besar seiring bertambahnya konsentrasi sampel uji. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi sampel uji, maka semakin banyak kandungan bahan aktif yang mampu menghambat aktivitas bakteri. Alouw et al. (2022) menyatakan bahwa penambahan konsentrasi senyawa antibakteri dapat meningkatkan penetrasi senyawa tersebut ke bagian dalam sel bakteri yang akan merusak sistem metabolisme sel dan dapat

mengakibatkan kematian sel. Diameter zona hambat terhadap bakteri *E. coli* diamati dengan melihat zona bening yang terbentuk seperti pada Gambar 21.

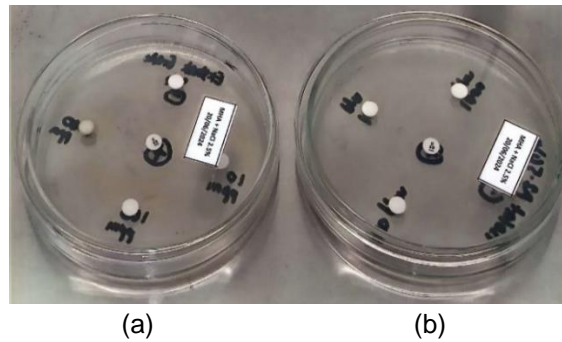


Gambar 21. Zona hambat ekstrak etil asetat *S. polycystum* (a) dan isolat A2.5(1).4 (b) terhadap *E. coli*

Ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4 juga diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan data diameter zona hambat pada Tabel 8. Hasil pengamatan tersebut tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap *V. parahaemolyticus* pada semua konsentrasi yang diujikan (Gambar 22). Penelitian terkait uji antibakteri pada sampel dengan genus yang sama, yakni ekstrak etil asetat *Sargassum* sp. terhadap *V. parahaemolyticus* yang dilakukan oleh Datu (2017) juga tidak menunjukkan zona hambat meskipun dengan konsentrasi yang lebih besar, yaitu 20.000, 30.000, dan 40.0000 ppm. Hasil ini mengindikasikan bahwa diperlukan konsentrasi sampel uji yang lebih tinggi untuk menghambat bakteri *V. parahaemolyticus*.

Tabel 8. Hasil pengukuran aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio parahaemolyticus*

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)	Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)
Kontrol negatif (etil asetat)	0	Kontrol negatif (<i>n</i> -heksana)	0
Kontrol positif (kloramfenikol)	39,40	Kontrol positif (kloramfenikol)	40,00
Ekstrak etil asetat 10 ppm	0	Isolat A2.5(1).4 10 ppm	0
Ekstrak etil asetat 100 ppm	0	Isolat A2.5(1).4 100 ppm	0
Ekstrak etil asetat 1000 ppm	0	Isolat A2.5(1).4 1000 ppm	0



Gambar 22. Zona hambat ekstrak etil asetat *S. polycystum* (a) dan isolat A2.5(1).4 (b) terhadap *V. parahaemolyticus*

Kategori aktivitas antibakteri suatu sampel ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yang terbentuk lebih dari 20 mm dianggap memiliki aktivitas daya hambat sangat kuat, zona hambat 10-20 mm dinyatakan memiliki aktivitas daya hambat kuat, zona hambat 5-10 mm tergolong memiliki aktivitas daya hambat sedang, dan zona hambat kurang dari 5 mm dinyatakan sebagai aktivitas dengan daya hambat lemah (Masykuroh dan Puspasari, 2022). Berdasarkan data diameter zona hambat pada Tabel 6 dan 7, didapatkan bahwa ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4 memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori sedang dan lemah secara berturut-turut terhadap *E. coli* dan *V. parahaemolyticus* pada semua konsentrasi yang diujikan.

3.7 Pengujian Bioaktivitas sebagai Antiinflamasi

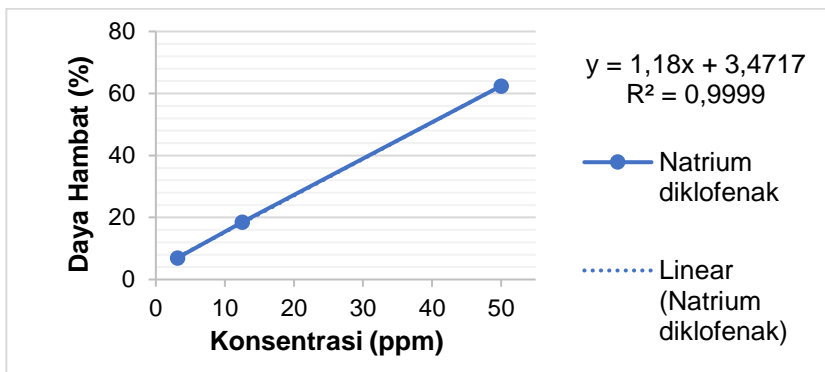
Metode pengujian bioaktivitas ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4 sebagai antiinflamasi dilakukan menggunakan metode penghambatan denaturasi protein. Data hasil pengujian ditampilkan dalam nilai persen daya hambat seperti pada Tabel 9.

Tabel 9. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4

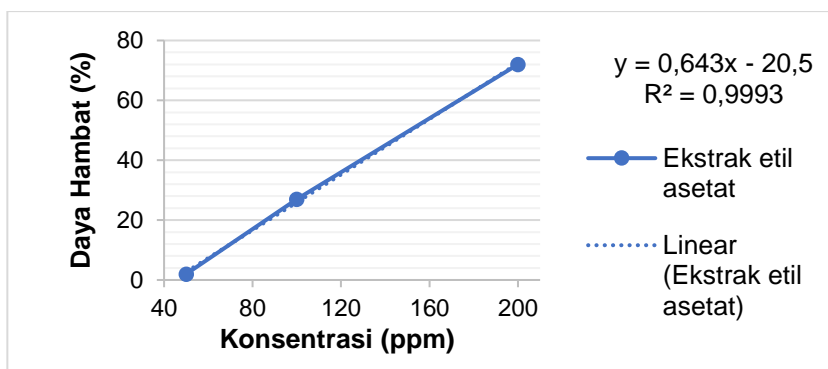
Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Absorbansi	Daya Hambat (%)
Kontrol negatif	100%	1,770	0
	3,125	1,646	6,96
Kontrol positif	12,5	1,443	18,47
	50	0,665	62,42
Ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i>	50	1,732	2,17
	100	1,276	27,91
	200	0,494	72,09
	12,5	1,611	5,76
	25	1,262	8,98
Isolat A2.5(1).4	25	1,262	8,98
	50	1,095	28,66

Data tersebut menunjukkan nilai persen daya hambat untuk ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4 yang dibandingkan dengan kontrol positif. Obat natrium diklofenak digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian karena memiliki efek yang cepat dalam mengatasi inflamasi. Obat tersebut bekerja dengan cara menghambat sintesis prostaglandin melalui penghambatan kerja enzim siklooksigenase (Zahra dan Carolia, 2017). Persen daya hambat pada Tabel 8 menunjukkan nilai yang semakin meningkat seiring bertambahnya konsentrasi sampel uji. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi et al., (2023), perbandingan daya hambat sampel uji dan kontrol positif dengan konsentrasi yang sama (50 ppm) menunjukkan bahwa persen daya hambat paling tinggi ditemukan pada kontrol positif, diikuti isolat A2(5)1.4 pada urutan kedua dan ekstrak etil asetat *S. polycystum* pada urutan ketiga

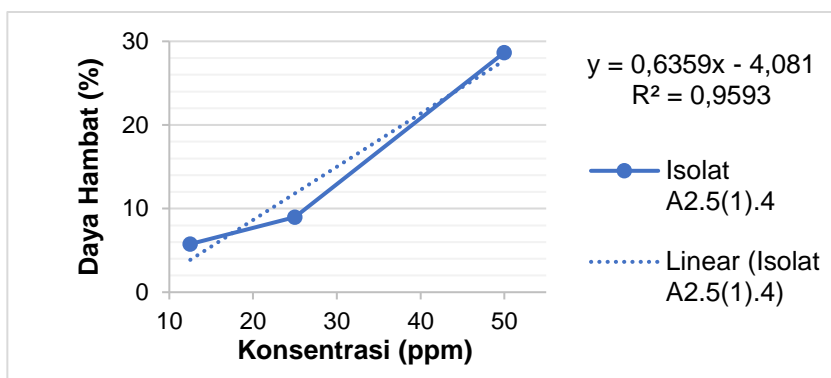
Data tersebut kemudian dibuat grafik hubungan antara persen daya hambat dengan konsentrasi sampel yang digunakan untuk melihat persamaan regresi dari masing-masing sampel uji, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 23, 24, dan 25. Persamaan regresi yang didapatkan kemudian digunakan untuk mencari nilai IC₅₀ dari setiap sampel uji.



Gambar 23. Grafik hubungan persen daya hambat dan konsentrasi kontrol positif



Gambar 24. Grafik hubungan persen daya hambat dan konsentrasi ekstrak etil asetat *S. polycystum*



Gambar 25. Grafik hubungan persen daya hambat dan konsentrasi isolat A2.5(1).4

Berdasarkan persamaan regresi dari masing-masing grafik, maka didapatkan nilai IC_{50} sebagai variabel x dengan mengganti nilai variabel y menjadi 50 pada persamaan regresi yang didapatkan. Nilai IC_{50} yang didapatkan untuk ekstrak etil asetat *S. polycystum* memiliki aktivitas antiinflamasi yang tergolong sedang, sedangkan isolat A2.5(1).4 memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi yang tergolong dalam kategori kuat (Tabel 10). Hal ini dapat disebabkan karena pada ekstrak etil asetat *S. polycystum* masih terkandung banyak senyawa yang dapat saling memengaruhi satu sama lain, baik secara sinergis maupun antagonis, sehingga nilai IC_{50} dari suatu ekstrak dapat lebih tinggi dibandingkan dengan isolat karena aktivitas penghambatannya terganggu oleh senyawa-senyawa yang bersifat antagonis terhadap aktivitas antiinflamasi.

Tabel 10. Nilai IC_{50} ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).5

No.	Sampel Uji	IC_{50} (ppm)	Kategori
1.	Kontrol positif (natrium diklofenak)	39,43	Sangat Kuat
2.	Ekstrak etil asetat <i>S. polycystum</i>	151,94	Sedang
3.	Isolat A2.5(1).4	85,16	Kuat

Keterangan: IC_{50} <50 ppm (sangat kuat), 50-100 ppm (kuat), 101-250 ppm (sedang), 251-500 ppm (lemah), dan >500 ppm (tidak aktif) (Minarti et al., 2021).

Berdasarkan tabel tersebut, ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antiinflamasi dengan kategori sedang, sementara aktivitas antiinflamasi isolat A2.5(1).4 termasuk dalam kategori kuat. Penelitian yang dilakukan oleh Chouh et al., (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari sampel dengan genus yang sama, yakni *Sargassum vulgare* memiliki aktivitas penghambatan denaturasi protein terbaik pada konsentrasi 125 ppm, yakni sebesar 77% dibanding kontrol positif (ketoprofen) dengan persen penghambatan sebesar 41%. Hal tersebut menguatkan bahwa ekstrak etil dari genus *Sargassum* memiliki potensi dalam perannya sebagai antiinflamasi.

BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini, yaitu:

1. Ekstrak etil asetat *S. polycystum* diidentifikasi mengandung senyawa golongan flavonoid, steroid, dan tanin.
2. Isolat dengan kode A2.5(1).4 yang didapatkan dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* diidentifikasi sebagai senyawa asam palmitat atau asam heksadekanoat.
3. Aktivitas antibakteri terbaik ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4 terhadap *E. coli* tergolong sedang yang ditunjukkan pada konsentrasi 1000 ppm dengan diameter zona hambat secara berturut-turut sebesar 7,21 mm dan 8,53 mm. Sementara itu, aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan isolat A2.5(1).4 tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat pada semua konsentrasi yang diujikan (10, 100, dan 1000 ppm) terhadap *V. parahaemolyticus*, sehingga tergolong memiliki aktivitas antibakteri yang lemah.
4. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etil asetat *S. polycystum* termasuk dalam kategori sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 151,94 ppm, sedangkan isolat A2.5(1).4 menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang tergolong kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 85,16 ppm

4.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini, yaitu perlu adanya penelitian lanjutan untuk melihat potensi dari ekstrak etil asetat *S. polycystum* dan senyawa asam palmitat terhadap aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan antiinflamasi melalui pengujian secara *in vivo* maupun *in silico*. Penelitian tersebut dapat menjadi informasi dan pratinjau pendukung untuk rencana pengembangan obat dari bahan alam (*S. polycystum*) sebagai antibakteri dan antiinflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, H.T., 2015. Ekstraksi Daun Mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) dan Daun Mindi (*Melia azedarach*) untuk Uji Kandungan Azadirachtin Menggunakan Spektrofotometer. TESIS. Universitas Diponegoro, Semarang
- Akbar, D.S., Sunarwidhi, A.L. and Muliastari, H., 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi *Sargassum polycystum* dari Pantai Batu Layar Nusa Tenggara Barat. Indonesia Natural Research Journal 7(2): 97-107. doi: <https://doi.org/10.52447/inrpj.v7i2.6546>
- Akrom and Hidayati, T., 2021. Imunofarmakologi Radang. Azkiya Publishing, Bogor
- Alamsyah, H.K., Widowati, I. and Sabdono, A., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Sargassum cinereum* dari Perairan Pulau Panjang Jepara terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. Journal of Marine Research 3(2): 69-78. doi: <https://doi.org/10.14710/jmr.v3i2.4966>
- Alfajri, S., Agustina, F., Sarim N.P., and Pramuanggit, P.N., 2018. Uji Resistensi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* terhadap Ekstrak Makroalga *Halimeda discoidea*, *Halymenia dilatata*, dan *Dictyota dichotoma*. SIMBIOSA 7(1): 33-44. doi: <https://doi.org/10.33373/sim-bio.v7i1.1312>
- Alouw, G.E.C., Fatimawali and Lebang, J.S., 2022. Antibacterial Activity of Ethanol Extraction from Jamaican Cherry Leaves (*Muntingia calabura L.*) on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria Using Well Difussion Method. Pharmacy Medical Journal 5(1): 36-44.
- Amaliah, N., Salempa, P., and Muharram., 2020. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Metanol Batang Belajang Susu (*Scindapsus pictus Hassk.*). Jurnal Chemica 21(1): 78-85. doi: <https://doi.org/10.35580/CHEMICA.V21I1.14841>
- Arel, A. and Ningsih, W., 2022. Isolasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Daun Tumbuhan Berenuk (*Crescentia cujute L.*). Forte Journal 2(1): 67-73. doi: <https://doi.org/10.51771/fj.v2i1.250>
- Arsianti, A., Bahtiar, A., Wangsaputra, V.K., Azizah, N.N., Fachri, W., Nadapdap, L.D., et al., 2020. Phytochemical Composition and Evaluation of Marine Alga *Sargassum polycystum* for Antioxidant Activity and In Vitro Cytotoxicity on Hela Cells. Pharmacogn J 12(1): 1692-1698. doi: <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2020.12.14>
- Azwanida, N.N., 2015. A Review on The Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength, and Limitation. Medicinal and Aromatic Plants 4(3): 1-6. doi: <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Bai, J., Paddock, Z.D., Shi, X., Li, S., An, B., and Nagaraja, T.G., 2012. Applicability of A Multiplex PCR to Detect The Seven Major Shiga Toxin Producing *Escherichia coli* Based on Genes That Code for Serogroup Specific O-Antigens and Major Virulence Factors in Cattle Feses.

- Foodborne Pathogens and Disease 9(6): 541-548. doi: <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.1082>
- Bouzari, S., Aslani, M.M., Oloomi, M., Jafari, A., and Dashti, A., 2011. Comparison of Multiplex PCR with Serogrouping and PCR-RFLP of FLIC Gene for The Detection of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). *Braz J. Infect Dis* 15(4): 364-369. doi: [https://doi.org/10.1016/s1413-8670\(11\)70206-9](https://doi.org/10.1016/s1413-8670(11)70206-9)
- Cadorso, S.M., Pereira, O.R., Seca, A.M.L., Pinto, D.C.G.A., and Silva, A.M.S., 2015. Seaweeds as Preventive Agents for Cardiovascular Diseases from Nutrients to Functional Food. *Marine Drugs* 13(11): 6838-6865. doi: [10.3390/md13116838](https://doi.org/10.3390/md13116838)
- Chen, L., Wang, J., Chen, J., Zhang, R., Zhang, H., Qi, X., et al., 2023. Epidemiological Characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* Outbreaks, Zhejiang, China, 2010-2022. *Frontiers in Microbiology* 14(1): 1-9. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1171350>
- Chouh, A., Nouadri, T., Catarino, M.D., Silva, A.M.S., and Cardoso, S.M., 2022. Phlorotannins of The Brown Algae *Sargassum vulgare* from The Mediterranean Sea Coast. *Antioxidants* 11(6): 1-16. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11061055>
- Datu, S.S., 2017. Skrining Antibakteri Ekstrak Sargassum sp. terhadap Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harvayi*. SKRIPSI. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Dewi, N.P., Alaydrus, S., and Pratiwi, P., 2020. Pola Pengobatan Penyakit Diare pada Pasien Pediatrik di RSUD Anutapura Palu Tahun 2019. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy* 4(1): 1-8. doi: <https://doi.org/10.21111/PHARMASIPHA.V4I1.3927><https://doi.org/10.21111/PHARMASIPHA.V4I1.3927>
- Dhara, S. and Chakraborty, K., 2021. Antiinflammatory Xenicane-Type Diterpenoid from The Interdial Brown Seaweed *Sargassum illicifolium*. *Natural Product Research* 35(24): 5699-5709. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1825426>
- Dima, L.L.R.H., Fatimawali, and Lolo, W.A., 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi* 5(2): 282-289. doi: <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.12273>
- Dinos, G.P., Athanassopoulos, C.M., Missiri, D.A., Giannopoulou, P.C., Vlachogiannis, I.A., Papadopoulos, G.A., et al., 2016. Chloramphenicol Derivatives as Antibacterial and Anticancer Agents: Historic Problems and Current Solutions. *Antibiotics* 5(2): 1-21. doi: <https://doi.org/10.3390/antibiotics5020020>
- Fadlilmoula, A., Pinho, D., Carvalho, V.H., Catarino, S.O., and Minas, G., 2022. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood

over the Last 20 Years: A Review towards Lab on a Chip Devices. *Micromachines* 13(2): 1-20. doi: <https://doi.org/10.3390/mi13020187>

- Fadlilaturrahmah, Amilia, J., Sukmawaty, Y., and Wathan, N. 2022., Identifikasi Fitokimia dan Uji Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Fraksi *n*-Heksana Kapur Naga (*Calophyllum soulattri* Burm F) dengan Metode Uji Penghambatan Denaturasi Protein Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Pharmascience* 9(2): 355-367.
- Farida, Y., Rahmat, D., and Amanda, A.W., 2018. Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 16 (2): 225-230. doi: <https://doi.org/10.35814/jifi.v16i2.569>
- Fasya, A.G., Purwantoro, B., Ulya, L.H., and Ahmad, M., 2020. Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis dari Fraksi *n*-Heksana *Hydrilla verticillata*. *Alchemy: Journal of Chemistry* 8(1): 23-24. doi: <http://dx.doi.org/10.18860/al.v8i1.9936>
- Fasya, A.G., Tyas, A.P., and Mubarakah, F.A., 2018. Variasi Diameter Kolom dan Rasio Sampel Silika pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah *Euchema cottonii* dengan Kromatografi Kolom Basah. *ALCHEMY Journal of Chemistry* 6(2): 57-64. doi: <http://dx.doi.org/10.18860/al.v6i2.7015>
- Fazriati, D., Sulistyawati, H., and Iso'aini, A., 2020. Besaran Zona Hambat Perasan Buah Pare (*Momordica charantia* L.) pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Insan Cendekia* 7(1): 23-27. doi: <https://doi.org/10.35874/jic.v7i1.553>
- Ganesan, A.R., Tiwari, U., and Rajauria, G., 2019. Seaweed Nutraceuticals and Their Therapeutic Role in Disease Prevention. *Food Science and Human Wellness* 8(3): 252-263. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.08.001>
- Goa, R.P., Kopon, A.M., and Boelan, E.G. 2021. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*) dan Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) Asal Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Beta Kimia* 1(1): 37-31. doi: <https://doi.org/10.201185/GBK.V11i1.5168>
- Gyawali, B., Ramakrishna, K., and Dhamoon, A.S. 2019. Sepsis: The Evaluation in Definition, Pathophysiology, and Management. *SAGE Open Medicine* 7(1): 1-13. doi: <https://doi.org/10.1177/2050312119835043>
- Hasan, H., Akuba, J., and Ismail, F.S., 2023. Karakterisasi Metabolit Sekunder Daun Jarak Cina (*Jathropa multifida* Linn.) serta Efektivitasnya Penyembuhan Luka Insisi. *Journal Syifa Sciences and Clinal Research* 5(1): 178-191. doi: <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i3.16268>
- Hidayah, N., Hisan, A.K., Solikin, A., Irawati, and Mustikaningtyas, D., 2016. Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat

- Aktivitas *Staphylococcus aureus*. Journal of Creativity Student 1(1): 1-9. doi: <https://doi.org/10.15294/jcs.v1i2.7794>
- Illing, I., Safitri, W., and Erfiana, E., 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. Dinamika 8(1), 66-84.
- Ismail, I.A., Riga, R., Suryani, O., Insani, M., Pernadi, N.L., and Febriyanti, A., 2022. Analisis Spektrum ¹H-NMR: Penjelasan Sederhana. International Journal of Academic Multidisciplinary Research 6(12): 336-342.
- Isnansetyo, A., Irpani, H.M., Wulansari, T.A., and Kasanah, N., 2015. Oral Administration of Alginate from A Tropical Brown Seaweed *Sargassum* sp. to Enhance Non-Specific Defense in Walking Catfish (*Clarias* sp.). Aquacultura Indonesiana 15(1): 78-80. doi: <http://dx.doi.org/10.21534/ai.v15i1.29>
- Johnson, M., Kanimozhi, S.A., Malar, R.J.J., Shibila, T., Freitas. P.R., Tintino, S.R., et al., 2019. The Antioxidative Effects of Bioactive Products from *Sargassum polycystum* C. Agardh and *Sargassum duplicatum* J. Agardh against Inflammation and Other Pathological Issues. Complementary Therapies in Medicine 46(1): 19-23. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.06.014>
- Josua, E., Wewengkang, D., and South E., 2021. Antibacterial Activity Test of Extracts and Fractions of Sponge *Liosina paradoxa* from Mantehage Island Waters. PHARMACON 10(3): 933-939. doi: <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.35592>
- Khafid, A., Wiraputra, M.D., Putra, A.C., Khoirunnisa, N., Putri, A.A.K., Suedy, S.W.A., et al., 2023. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. Buletin Anatomi dan Fisiologi 8(1): 61-70. doi: <https://doi.org/10.14710/baf.8.1.2023.61-70>
- Krishna, Y., Asifattahi, N., Faizal, M., and Ng, K.C., 2020. Enhancing The Thermal Properties of Organic Phase Change Material (Palmitic Acid) by Doping MXene Nanoflakes. AIP Conference Proceedings. doi: <https://doi.org/10.1063/5.0001366>
- KKP (Kementrian Kelautan dan Perikanan), 2022. *Rilis Data Kelautan dan Perikanan Tahun 2022*. Sekretariat Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan, Aceh
- Li, L.H., Dutkiewicz, E.P., Huang, Y.C., Zhou, H.B., and Hsu, C.C., 2019. Analytical Methods for Cholesterol Quantification. Journal of Food and Drug Analysis 27(2): 1-12. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.09.001>
- Liu, J., Luthuli, S., Yang, Y., Cheng, Y., Zhang, Y., Wu, M., et al., 2020. Therapeutic and Nutraceutical Potential of A Brown Seaweed *Sargassum fusiforme*. Food Science and Nutrition 8(10): 5195-5205. doi: 10.1002/fsn3.1835

- Lovell, A.R. and Ernst, M.E., 2017. Drug-Induced Hypertension Focus on Mechanisms and Management. *Current Hypertension Report* 19(5): 1-12. doi: <https://doi.org/10.1007/s11906-017-0736-z>
- Magvirah, T., Marwati, and Ardhani, F., 2019. Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Perternakan Lingkungan Tropis* 2(2): 41-50. doi: <https://doi.org/10.30872/JPLTROP.V2I2.3687>
- Maharany, F., Nurjanah, N., Suwandi, R., and Anwar, R., 2017. Kandungan Senyawa Biokimia Bioaktif Rumput Laut *Padina australis* dan *Euचेuma cottonii* sebagai Bahan Baku Krim Tabir Surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 20(1): 10-17. doi: <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v20i1.16553>
- Mberato, S.P., Rumengan, I.F.M., Warouw, V., Wulur, S., Rumampuk, N.D.T., Undap, S.L., et al., 2020. Penentuan Struktur Molekul Kolagen Sisik Ikan Kakatua (*Scarus* sp.) Berdasarkan Serapan Molekul terhadap Gelombang FTIR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy Analysis). *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis* 8(1): 7-14. doi: <https://doi.org/10.35800/jplt.8.1.2020.27285>
- Meinita, M.D.N., Hawanto, D., Sohn, J.H., Kim, J.S., and Choi, J.S., 2021. *Hizikia fusiformis* Pharmacological and Nutritional Properties. *Food* 10(7): 1-27. doi: <https://doi.org/10.3390/foods10071660>
- Minarti, Ruga, R., and Marliana, E., 2021. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Pare Hutan (*Momordica balsamina* Linn.) dalam Menghambat Denaturasi Protein. *Prosiding Seminar Nasional*. pp. 103-107.
- Monongko, P.S., Sangi, M.S., and Momuat, L.I., 2020. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal MIPA* 9(2): 64-69. doi: <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28725>
- Muhridja, M., Bialangi, N., and Musa, W.J.A., 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif Repellent Nyamuk dari Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus celammus*). *Jurnal Entropi* 11(2): 176-184.
- Mulidini, Nanda, A.Y.D., Hanum, N.K., Nurfadhila, L., and Utami, M.R., 2023. Analysis and Validation of Metformin in Human Plasma Using the HPLC Method. *Journal of Pharmaceutical and Science* 6(2): 741-749. doi: <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i2.141>
- Mulyadi, Nur, I., and Iba, W., 2019. Uji Fitokimia Ekstrak Bahan Aktif Rumput Laut *Sargassum* sp. *Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan* 3(1): 22-25. doi: <http://dx.doi.org/10.33772/jsipi.v3i1.7567>
- Mulyani, T., Setyahadi, S., and Wibowo, A.E., 2023. Uji Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Daun Torbangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.) dan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *PHARMACY Jurnal Farmasi Indonesia* 20(1): 26-32. doi: <https://dx.doi.org/10.30595/pharmacy.v0i0.14246>

- Naibaho, R.E.F., 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Rumput Laut Coklat (*Sargassum polycystum* C. Agardh) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Environmental Science Biology 1(2): 1-11.
- Natsia and Jabar, A.A., 2021. Potensi Alga Coklat (*Sargassum polycystum* C. Agardh) sebagai Produk Teh untuk Meningkatkan Imunitas Tubuh. BIMFI 8(1): 80-94 doi: <https://doi.org/10.48177/bimfi.v8i1.70>
- Ningsih, A.P., Nurmianti, and Agustien, A., 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Biologi Universitas Andalas 2(3): 207-213. doi: <https://doi.org/10.25077/jbioua.2.3.%25p.2013>
- Novika, D.S., Ahsanunnisa, R., and Yani, D.F. 2021. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penghambatan Denaturasi Protein. Stannum: Jurnal Sains dan Terapan Kimia 3(1): 16-22. doi: <https://doi.org/10.33019/jstk.v3i1.2117>
- Nuraeni, N and Darwiati, W., 2021. Utilization of Plant Secondary Metabolites as Botanical Pesticides in Forest Plant Pests. Jurnal Galam 2(1): 1-15. doi: <http://dx.doi.org/10.20886/glm.2021.1.1.1-15>
- Nurrosyidah, I.H., Kusumastuti, A.F., Rahmadani, D.C., and Kusumastuti, E., 2021. Aktivitas Antibakteri Yogurt Susu *Phaseolus vulgaris* L. dan *Phaseolus radiatus* L. dengan Penambahan Madu terhadap *E. coli*, *S. aureus*, dan Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL). Jurnal Ilmiah Medicamento 7(2): 90-94. doi: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i2.1756>
- Nurzaman, F., Djajadisastra, J., and Elya, B., 2018. Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. Jurnal Kefarmasian Indonesia 8(2): 85-93. doi: <https://doi.org/10.22435/jki.v8i2.325>
- Nuzul, P., Lantang, D., and Dirgantaram, S., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Alga Coklat *Padina* sp. dari Pantai Sorido Biak terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. Pharmacy Medical Journal 1(1): 16-25. doi: <https://doi.org/10.35799/pmj.1.1.2018.19647>
- Pakidi, C.S. and Sumoyo, H.S., 2016. Potensi dan Pemanfaatan Bahan Aktif Alga Coklat *Sargassum* sp. OCTOPUS Jurnal Ilmu Perikanan 6(1): 551-562. doi: <https://doi.org/10.26618/octopus.v5i2.720>
- Paramitha, V.S. and Kumari, N.S., 2016. Antiinflammatory, Antioxdant, Phytochemical, and GC-MS Analysis of Marine Brown Macroalga, *Sargassum wightii*. International Journal of Pharmaceutical Chemical and Biological Sciences 6(1): 7-15.
- Pinta, Lolo, W.A., and Yamlean, P.V.Y., 2017. Identifikasi Kandungan Fitokimia dan Uji Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum Ekstrak Etanol Daun

- Pangi (*Pangium edule* Reinw. Ex Blume) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 6(3): 260-267.
- Plaza, N., Reytor, D.P., Corsini, G., Garcia, K., and Urrutia, I.M., 2024. Contribution of the Type III Secretion System (T3SS2) of *Vibrio parahaemolyticus* in Mitochondrial Stress in Human Intestinal Cells. *Microorganisms* 12(4): 1-12. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040813>
- Pratiwi, A.R.H., Yusran, Islawati, and Artati., 2023. Analisis Kadar Antioksidan pada Ekstrak Daun Binahong Hijau (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Bioma Jurnal Biologi Makassar* 8(2): 66-74.
- Puspantri, W., Kusnandar, F., Lioe, H.N., and Laily, N., 2020. Penghambatan Fraksi Fukoidan Rumput Laut Cokelat (*Sargassum polycystum* dan *Turbinaria conoides*) terhadap α -Amilase dan α -Glukosidase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 23(1): 122-136. doi: <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30925>
- Putri, D.M. and Lubis, S.S., 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *AMINA Ar-Raniry Chemistry Journal* 2(3): 120-125. doi: <https://doi.org/10.22373/amina.v2i3.1384>
- Ramadhani, W.M., Rukmi, I., and Jannah S.N., 2020. Kualitas Mikrobiologi Daging Ayam Broiler di Pasar Tradisional Banyumanik Semarang. *Jurnal Biologi Tropika* 3(1): 8-16.
- Reynaldi, R. and Yani, D.F., 2021. Potensi Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* L.) Terhadap Denaturasi Protein Secara In Vitro. *Spin Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia* 1(1): 12-21.
- Rizki, S.A., Latief, M., Fitrianiingsih, and Rahman, H., 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibenthinus* Linn.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jambi Medical Journal: Journal Kedokteran dan Kesehatan* 10(3): 442-457.
- Riyanto, E.I., Widowati, I., and Sabdono, A., 2014. Skrinning Aktivitas Antibakteri pada Ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* dan *Micrococcus luteus* di Pulau Panjang Jepara. *Journal of Marine Research* 3(2): 115-121. doi: <https://doi.org/10.14710/jmr.v3i2.4972>
- Rohmatika, F., Asih, E.N.N., Mardiyanti, Y., and Ni'amah, S.N., 2023. Potensi Ekstrak dan Skrining Fitokimia *Ceulerpa* sp. sebagai Antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari Perairan Socah, Bangkalan-Madura. *Jurnal Perikanan* 13(4): 1138-1149. doi: <http://doi.org/10.29303/jp.v13i3.557>
- Saetan, U., Nontasak, P., Palasin, K., Saelim, H., Wonglapsuwan, M., Mayakun, J., et al., 2021. Potential Health Benefits of Fucoidan from The Brown Seaweeds *Sargassum plagiophyllum* dan *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology* 33(1): 1-8. doi: <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02491-3>

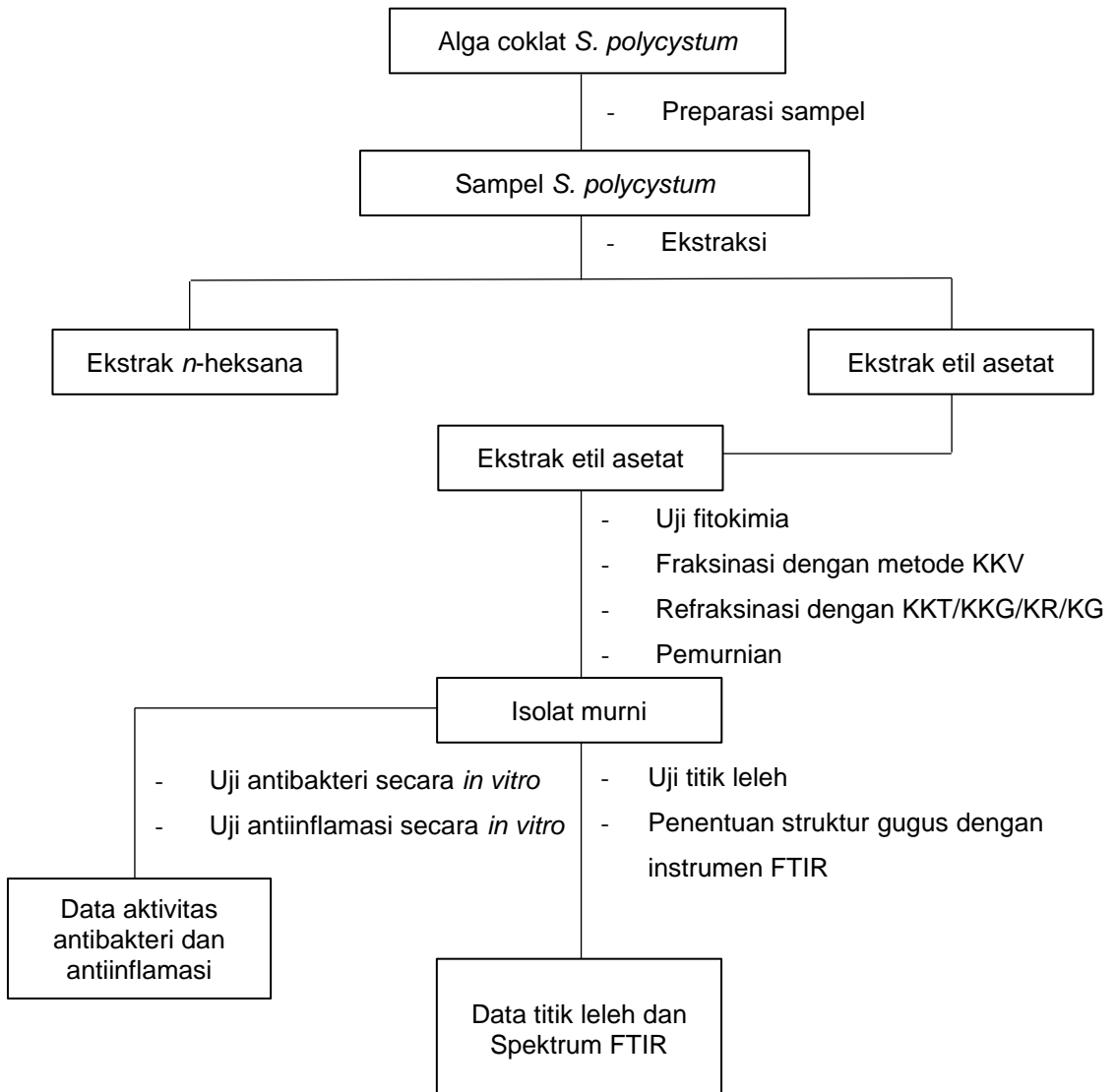
- Salatina, Sayekti, E., and Gusrizal. 2023., Aktivitas Tabir Syuar Fraksi Metanol dan Daun Simpur (*Dillenia indica* Linn.) dan Karakterisasi Senyawa Isolatnya. Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry 6(1): 27-37. doi: <https://dx.doi.org/10.26418/indonesian.v6i1.63085>
- Sami, F.J., Soekamto, N.H., Firdaus, and Latip, J., 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Alga Coklat *Sargassum polycystum* dan *Turbinaria deccurens* Asal Pulau Dutungan Sulawesi Selatan terhadap Radikal DPPH. Jurnal Kimia Riset 4(1): 1-6. doi: <https://doi.org/10.20473/jkr.v4i1.10903>
- Sampulawa, S. and Bahalwan, F., 2022. Identifikasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Alga Coklat (*Hormophysa triquetra*). Bioscientist 10(1): 212-217. doi: <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i1.4918>
- Santiyoga, I.K.W., Suhendra, L., dan Wartini, N.M., 2020. Karakterisasi Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) sebagai Antioksidan pada Perlakuan Perbandingan Pelarut Aseton dan Etil Asetat. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri 8(1): 91-104. doi: <https://doi.org/10.24843/JRMA.2020.v08.i01.p10>
- Saraswati, Giriwono, P.E., Iskandriati, D., Tan, C.P., and Andarwulan, N., 2019. *Sargassum* Seaweed as a Source of Anti-Inflammatory Substances and the Potential Insight of the Tropical Species: A Review. Marine Drugs 17(10): 1- 35. doi: <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/10/590#>
- Sari, N.W., Fajri, M.Y., and Anjas, W., 2018. Analisis Fitokimia dan Gugus Fungsi dari Ekstrak Etanol Pisang Goroho Merah (*Musa acuminata* (L)). IJOB 2(1): 30-34. doi: <https://doi.org/10.47007/ijobb.v2i1.26>
- Setiabudi, D.A. and Tukiran., 2017. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium littorale*). UNESA Journal of Chemistry 6(3): 155-160. doi: <https://doi.org/10.26740/ujc.v6n3.p%25p>
- Shaffer, J.J., Mani, M., Schmitz, S.K., Xu, J., Owusu, N., Wu, D., et al., 2020. Proton Exchange Magnetic Resonance Imaging: Current and Futere Applications in Psychiatric Research. Frontiers in Psychiatry 11(1): 1-20. doi: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.532606>
- Shreadah, M.A., Moneam, N.M.A.E., Assar, S.A.A., and Adam, A.N., 2018. Phytochemical and Pharmacological Screening of *Sargassum vulgare* from Suez Canal, Egypt. Food Sci Biotechnol 27(4): 963-979. doi: <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0323-3>
- Sitepu, R., Nurdiani, R., and Rollando, 2020. Aplikasi Metode Bioautografi dalam Penelusuran Daya Antibakteri Ekstrak Pegagan (*Cantella asiatica* (L.)). Jurnal Katalisator, 5(1): 32-46. doi: <https://doi.org/10.22216/JK.V5i1.5176>
- Sulistiyani, M. and Huda, N., 2017. Optimasi Pengukuran Spektrum Vibrasi Sampel Protein Menggunakan *Spektrofotometer Fourier Transform Infrared* (FTIR). Indonesian Journal of Chemical Science 6(2): 173-180.

- Sulistiyarani, I., Sari, D.A., and Wicaksono, T.A., 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta 5(1): 56-62. doi: <http://dx.doi.org/10.3194/ce.v5i1.3322>
- Supriadin, A., Kudus, R., and Amalia, V., 2017. Efek Larvasida Hasil Fraksinasi Metanol Daun *Aglaia glabrata* terhadap Larva *Aedes aegypti*. Jurnal ISTEK 10(1): 68-82.
- Suryati, Salim, E., and Adhianti, S.A., 2020. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Tumbuhan Pegagan (*Centella asiatica* Linn.) dan Uji Toksisitas. Jurnal Kimia Unad 9(1): 1-45. doi: <http://dx.doi.org/10.37033/fjc.v2i2.16>
- Syahmani, Leny, Iriani, R., and Elfa, N., 2017. Penggunaan Kitin sebagai Alternatif Fase Diam Kromatografi Lapis Tipis dalam Praktikum Kimia Organik. Jurnal Vidya Karya 32(1): 1-11. doi: <http://dx.doi.org/10.20527/jvk.v32i1.4153>
- Syamsudin, S., Alimuddin, A.H., and Sitorus, B., 2022. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Fenolik dari Daun Putat (*Planchonia valida* Blume). Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry 5(2): 85-98. doi: <https://dx.doi.org/10.26418/indonesian.v5i2.56554>
- Tukiran, Suyanto, Sabila, F.I., and Sari, A.K., 2023. Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antiinflamasi Kombinasi Ekstrak Etanol Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb.) terhadap Penghambatan Denaturasi Protein Bovine Serum Albumin. Journal Cis Trans: Jurnal Kimia dan Terapannya 7(1): 31-39. doi: <http://dx.doi.org/10.17977/um0260v7i12023p031>
- Valez, I.F., Bidegain, G., and Horin, T.B., 2023. Predicting the Growth of *Vibrio parahaemolyticus* in Oysters under Varying Ambient Temperature. Microorganisms 11(5): 1-21. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051169>
- Wardaniati, I. and Gusmawarni, V., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol *Propolis* Terhadap *Streptococcus mutans*. Jurnal Farmasi Higea 13(2): 115-123. doi: <https://doi.org/10.52689/higea.v13i2.372>
- Willard, H.H., Merritt, Jr., Dean, J.A., and Settle, Jr., 1988. Instrumental Method of Analysis. Wadworth Publishing Co., California
- Yevani, F., Moi, M.Y., and Ernaningsih, D. 2023. Daya Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Kligong (*Crassocephalum crepidiodes*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Syaphylococcus Aureus*. Jurnal Syntax Admiration 4(1), 1-16. doi: <https://jurnalsyntaxadmiration.com/index.php/jurnal/issue/view/34>
- Yu, X., Gao, S., Xu, J., Zhao, Y., Lu, Y., Deng, N., et al., 2022. The Flagellin of *Vibrio parahaemolyticus* Induces The Inflammatory Response of *Tetraodon ningroviridis* Through TLR5M. Fish and Shellfish Immunology 120(1): 102-110. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.10.024>

- Yuda, P.E.S.K., Cahyaningsih, E., and Winariyanthi, N.P.Y., 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) Jurnal Ilmiah Medicamento 3(2): 61-70. doi: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i2.891>
- Zahra, A.P. and Carolia, N., 2017. Obat Antiinflamasi NonSteroid (OAINS): Gastroprotektif vs Kardiotoksik. Majority 6(3): 153-158.
- Zamilah, M., Ruhimat, U., and Setiawan, D., 2020. Media Alternatif Kacang Tanah untuk Pertumbuhan Bakteri. Journal of Indonesian Medical Laboratory of Science 1(1): 57-65. doi: <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.11>

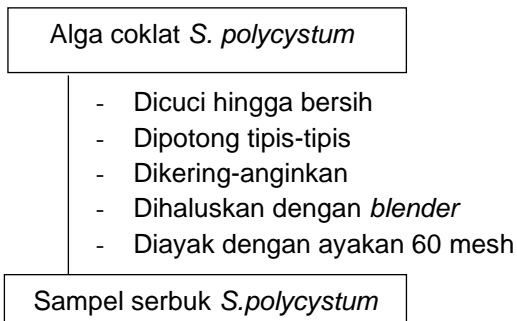
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram alir penelitian

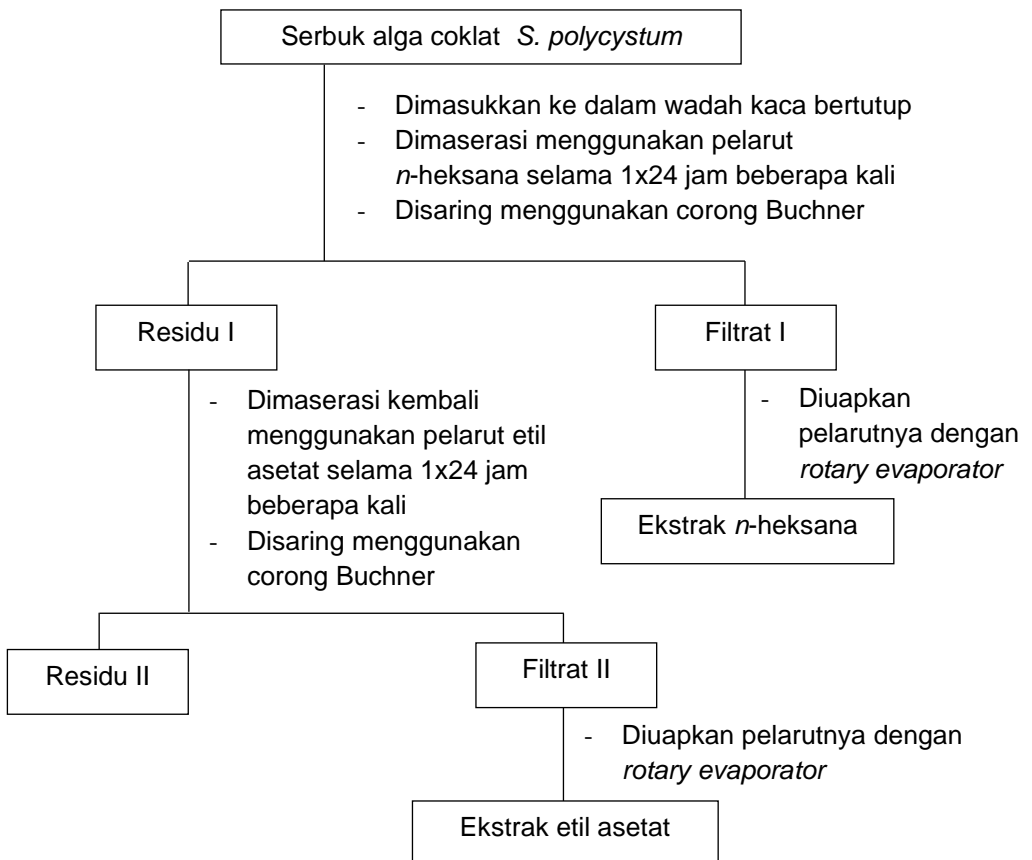


Lampiran 2. Bagan prosedur penelitian

1. Preparasi Sampel



2. Ekstraksi Sampel

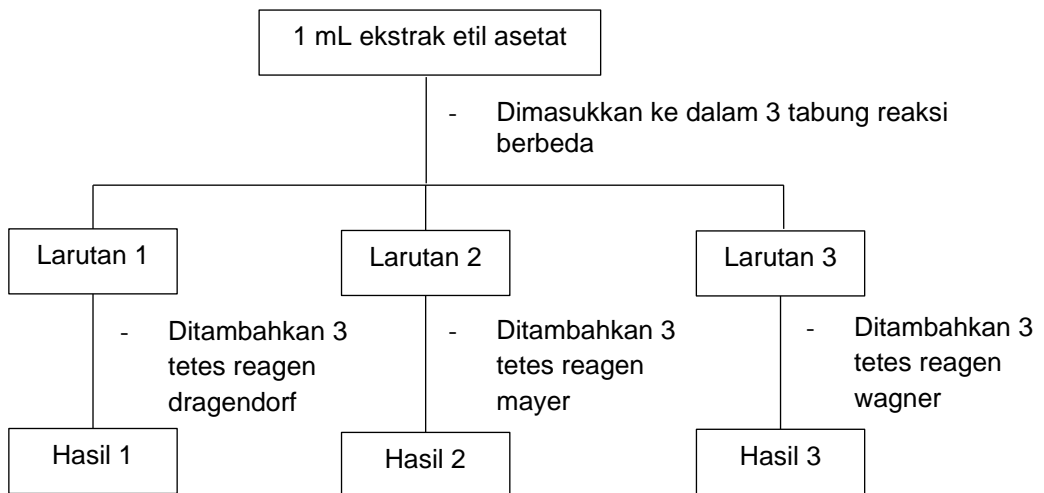


Catatan:

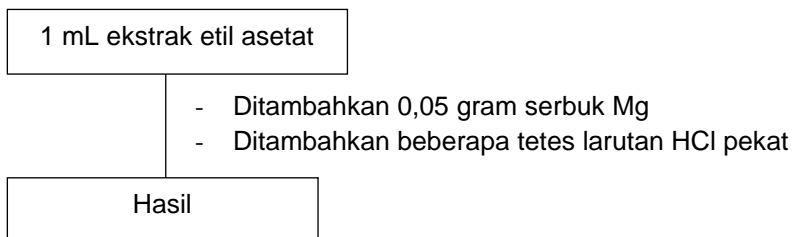
- Dilakukan proses remaserasi sambil dipantau melalui KLT

3. Skrining Fitokimia

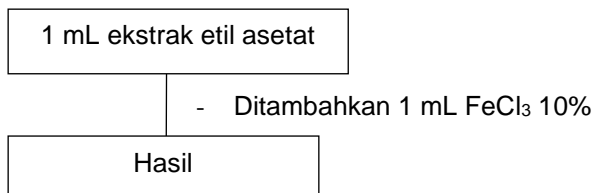
a. Uji Alkaloid



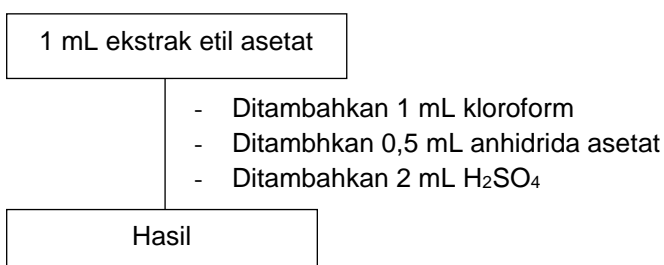
b. Uji Flavonoid



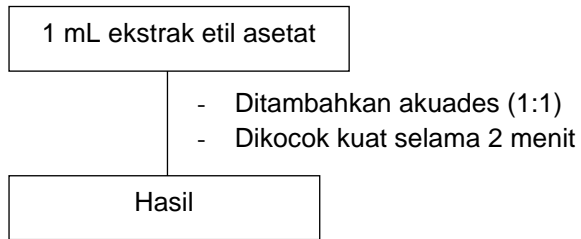
c. Uji Tanin



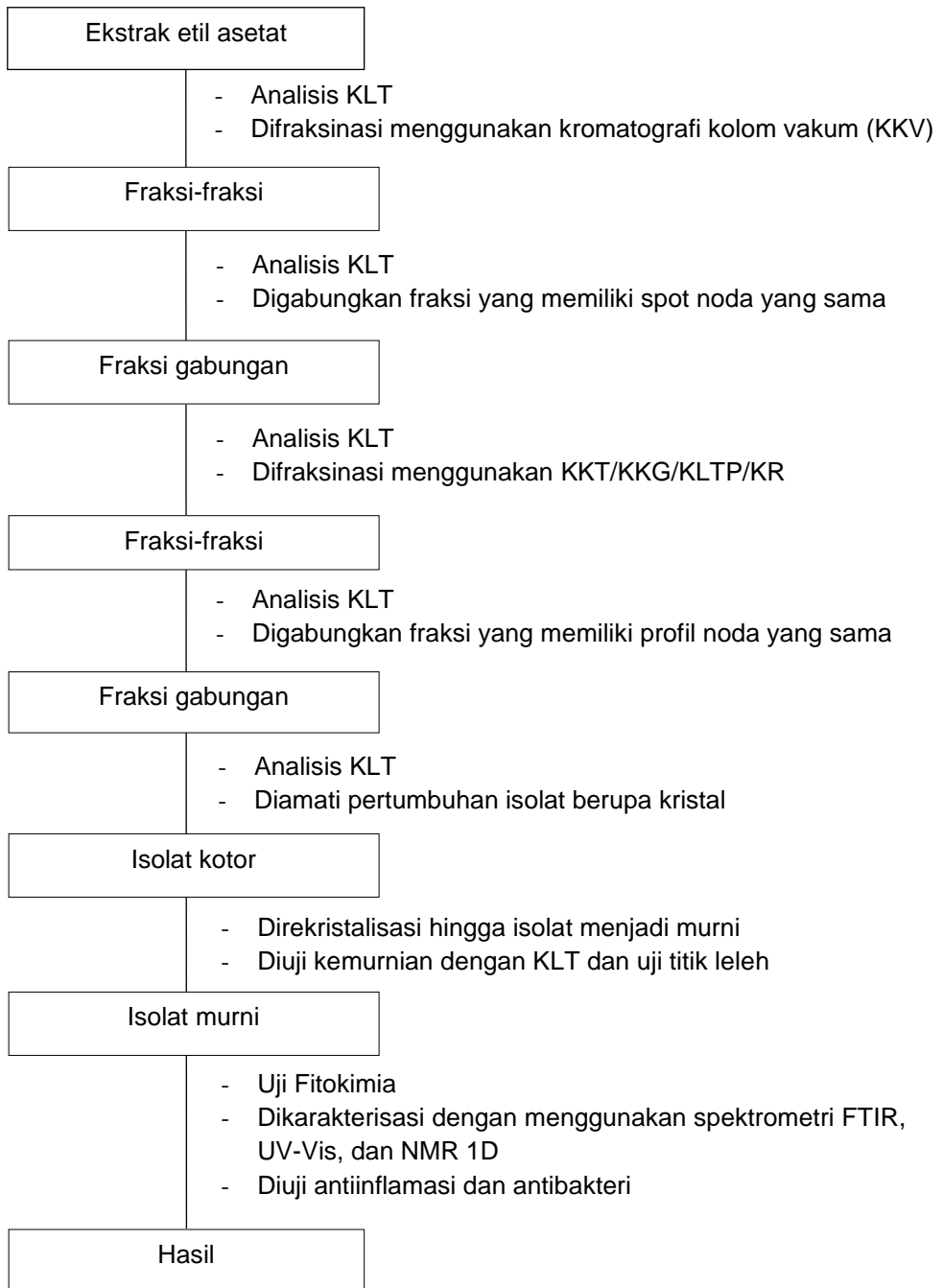
d. Uji Terpenoid/Steroid



e. Uji Saponin

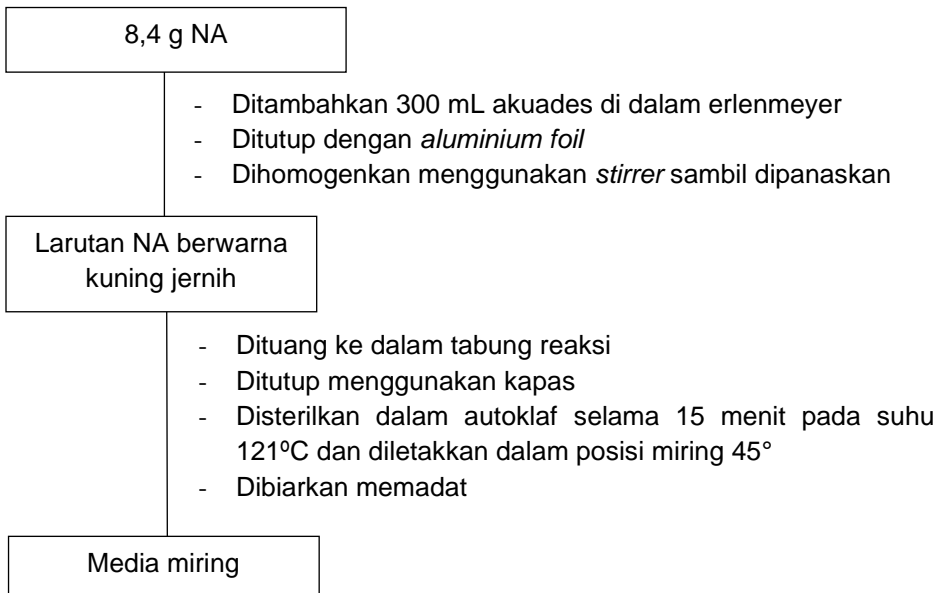


4. Pemurnian dan Identifikasi Senyawa

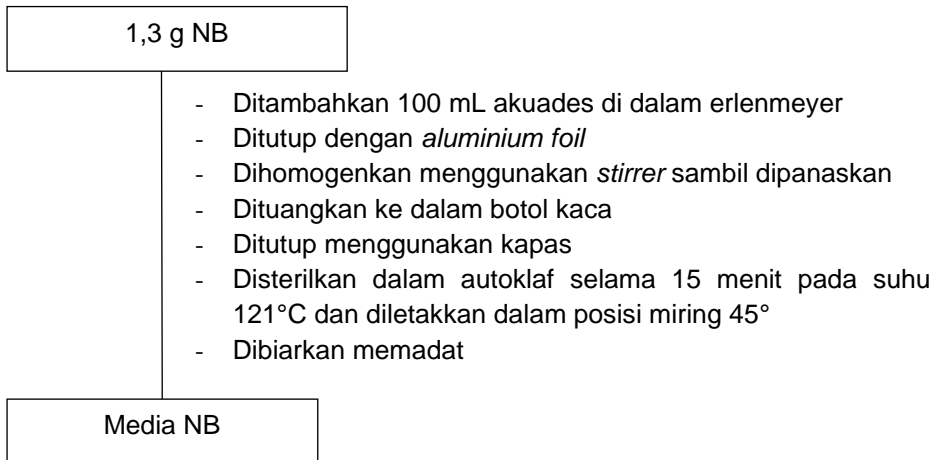


5. Pengujian Antibakteri pada *Escherichia coli*

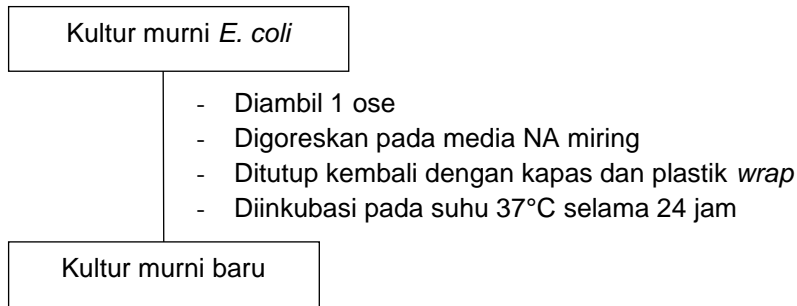
a. Pembuatan Media NA



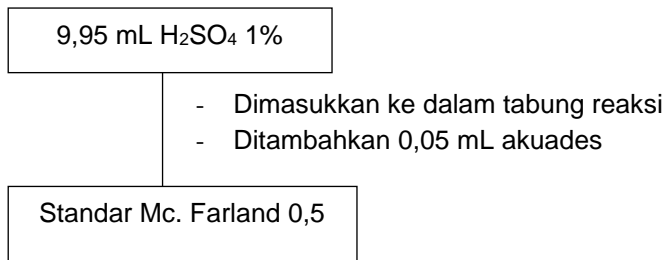
b. Pembuatan NB



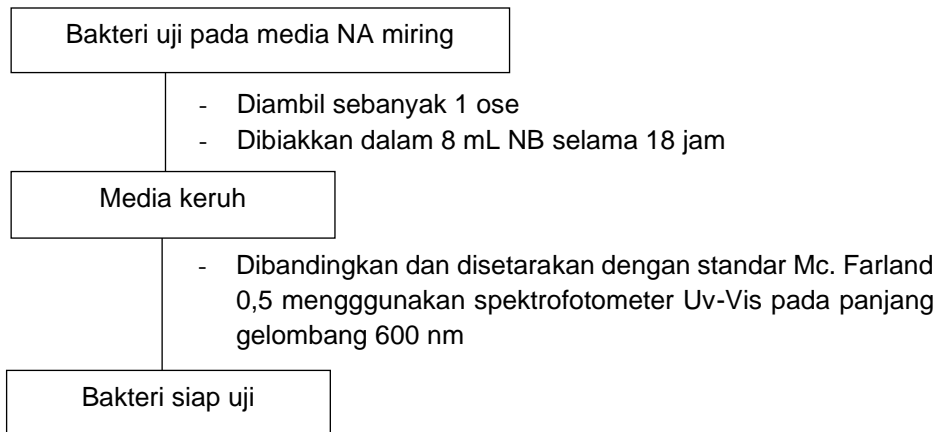
c. Peremajaan Bakteri

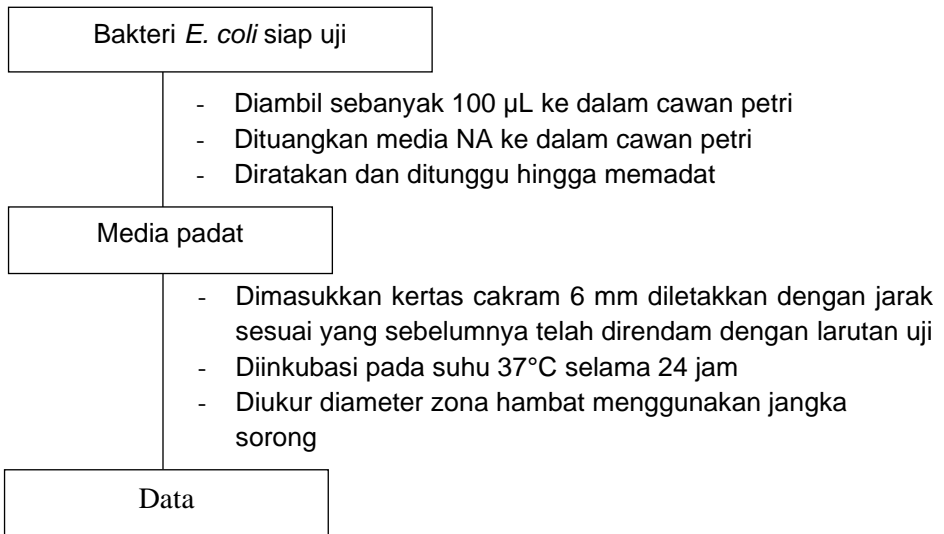


d. Pembuatan Standar Mc. Farland 0,5



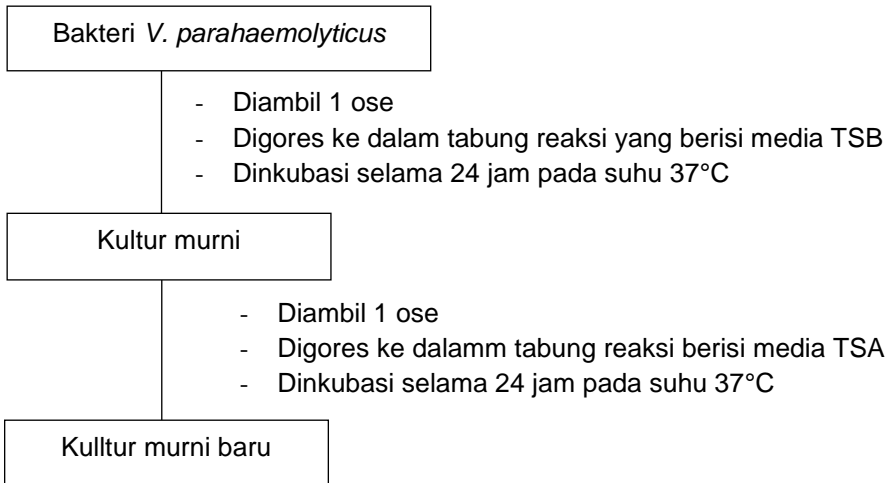
e. Pembuatan Suspensi Bakteri/Inokulum



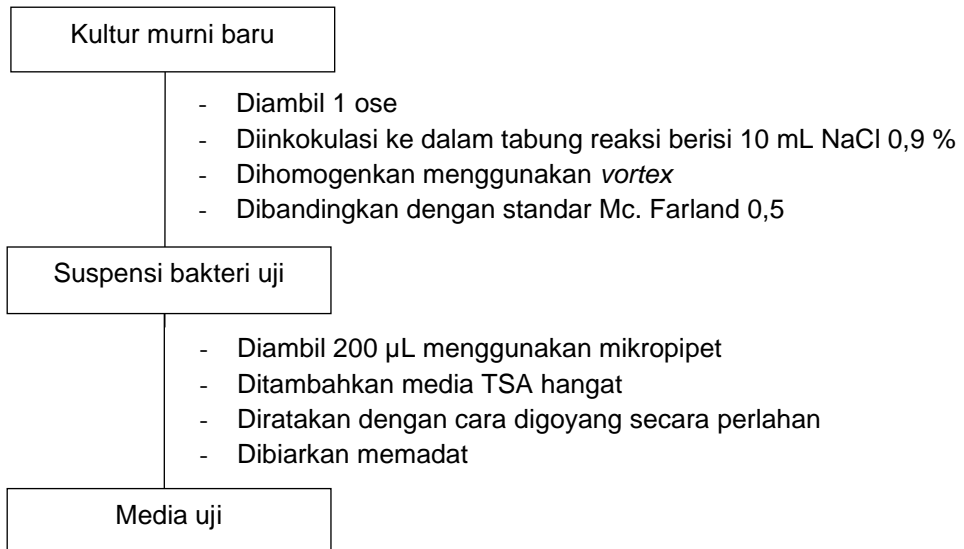
f. Uji Aktivitas Antibakteri pada *Escherichia coli*

6. Pengujian Antibakteri pada *Vibrio parahaemolyticus*

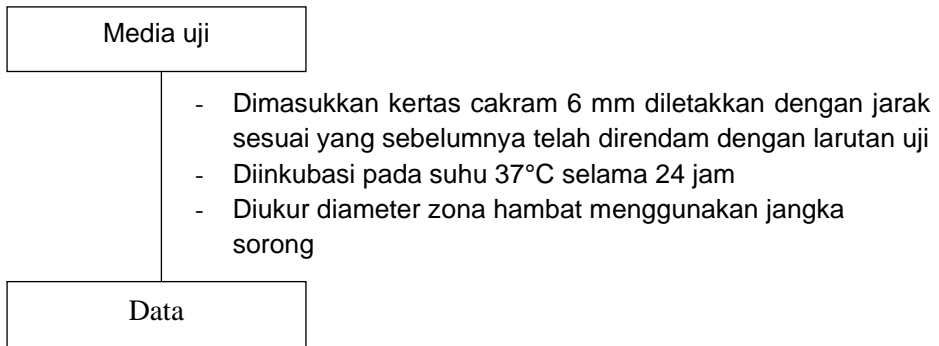
a. Peremajaan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*



b. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

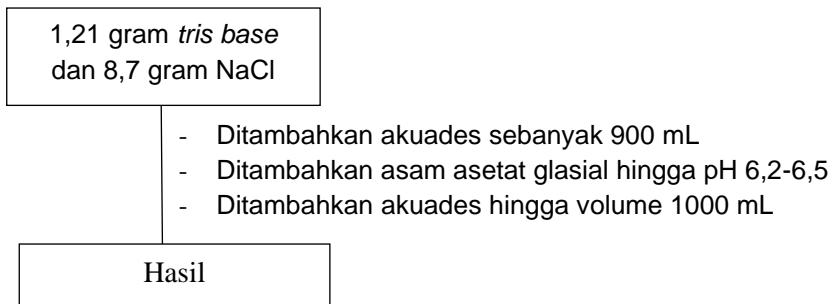


c. **Pengujian Aktivitas Antibakteri pada *Vibrio parahaemolyticus***

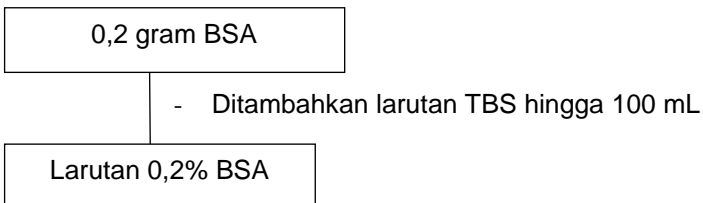


7. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi

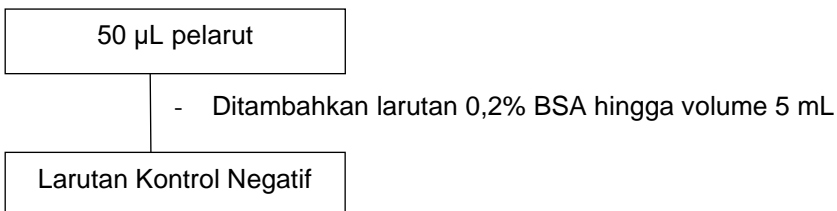
a. Pembuatan Larutan TBS (*Tris Buffer Saline*)



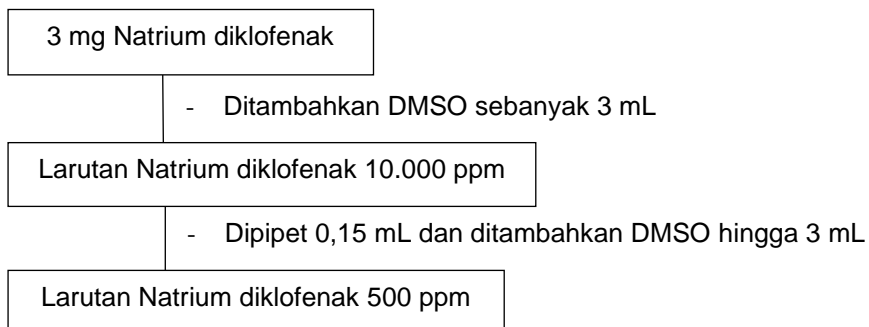
b. Pembuatan Larutan BSA 0,2 % (*Bovine Serum Albumin*)

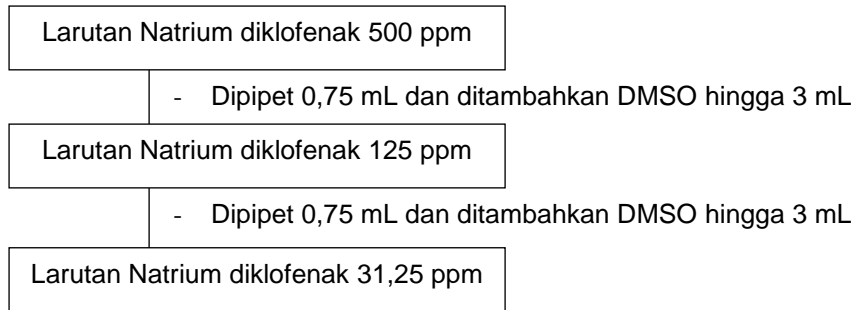


c. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

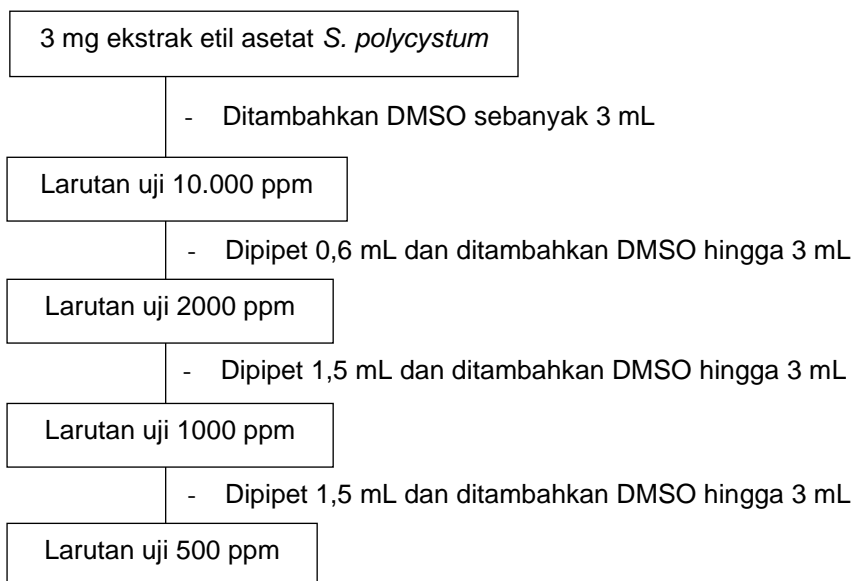


d. Pembuatan Kontrol Positif

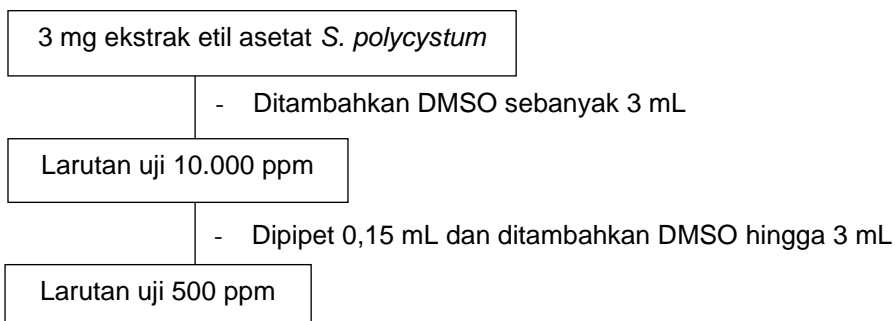


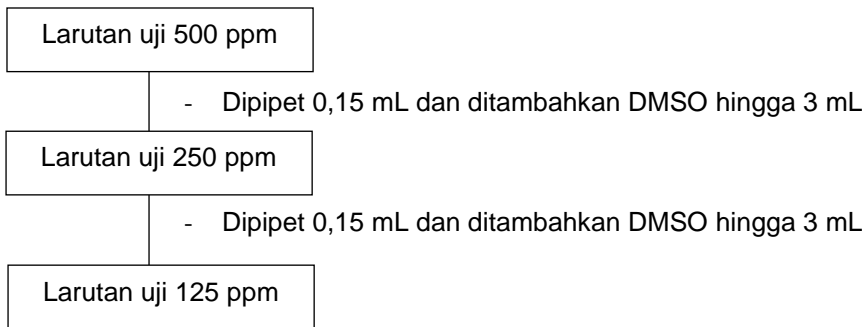


e. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

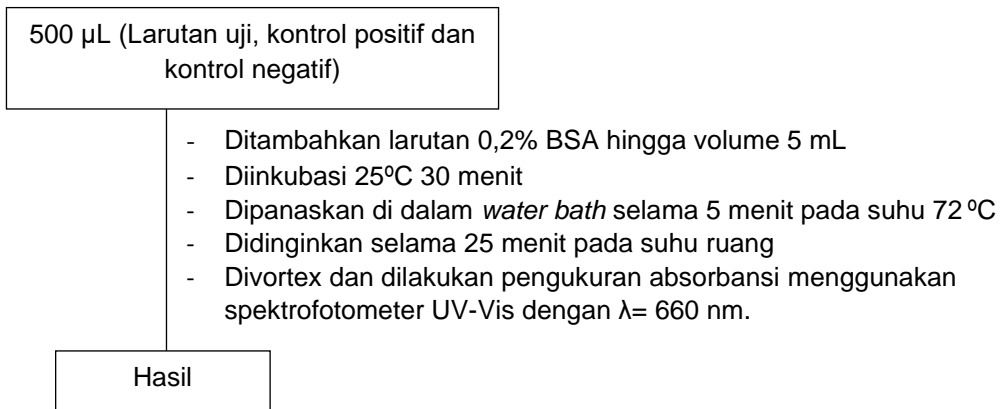


f. Pembuatan Larutan Uji Isolat





g. Pengukuran Aktivitas Antiinflamasi



Lampiran 3. Hasil identifikasi sampel


**DIREKTORAT PENGELOLAAN LABORATORIUM,
FASILITAS RISET, DAN KAWASAN SAINS TEKNOLOGI**

Gedung B.J. Habibie Jalan M.H. Thamrin Nomor 8,
Jakarta Pusat 10340
Telepon/WA: 0811 8612 392; E-mail: dit-plfrkst@brin.go.id
www.brin.go.id

No. ID ELSA : 142650

Transaction

Number

Metode : Identifikasi secara morfologi

Method

Nama : Laboratorium Oseanografi - BRIN

Laboratorium

Name of Laboratory

Alamat : Jl. Pasir Putih 1, Ancol Timur (Gedung Pusat Riset Oseanografi- BRIN)

Laboratorium Jakarta - Indonesia 11048

Laboratory Address Email : layan@mail.lipi.go.id; Telp +62 811-1391-617

Kondisi Pengukuran/Parameter Pengujian *Measurement Conditions/Testing Parameters* :

Identifikasi dengan menggunakan karakter morfologi

Hasil Pengujian *Testing Results* : *Sargassum polycystum* C.Agardh, 1824

<https://data.brin.go.id/privateurl.xhtml?token=d77f657d-83d7-4493-812b-b2354557b09e>

Catatan *Note* :

Daftar sampel yang dilakukan pengujian terdapat di lembar pengesahan.

Penamaan sampel sesuai dengan penamaan pada saat permohonan pengajuan layanan.

Terima kasih sudah melakukan pengujian/ penyewaan alat/ proses riset dengan fasilitas yang tersedia di Laboratorium Oseanografi. Jika dikemudian hari, hasil pengujian atau analisis ini akan dipublikasikan, mohon kiranya bisa menambahkan dalam Ucapan Terima Kasih atau Acknowledgement di dalam publikasi Anda,

seperti dalam contoh format berikut:

Dalam bahasa Indonesia : "Penelitian ini didukung oleh fasilitas riset, dan dukungan ilmiah serta teknis dari Laboratorium Oseanografi di Badan Riset dan Inovasi Nasional".

Dalam bahasa Inggris : "The authors acknowledge the facilities, and the scientific and technical assistance of the Oceanography Laboratories at the National Research and Innovation Agency

Lampiran 4. Perhitungan persentase rendemen ekstrak *S. polycystum***a. Persentase Rendemen Ekstrak *n*-Heksana *S. polycystum***

$$\begin{aligned}\text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk halus sampel (g)}} \times 100 \% \\ &= \frac{6,1700 \text{ g}}{2400 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,25 \%\end{aligned}$$

b. Persentase Rendemen Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum*

$$\begin{aligned}\text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk halus sampel (g)}} \times 100 \% \\ &= \frac{12,0046 \text{ g}}{2392\text{g}} \times 100\% \\ &= 0,50 \%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Eluen fraksinasi pertama ekstrak etil asetat *S. polycystum*

Kode Fraksi	Eluen	Perbandingan Eluen
1	<i>n</i> -heksana	100%
2		0,7:9,3
3		0,8:9,2
4		1:9
5		1,2:8,8
6		1,5:8,5
7		2:8
8		2,5:7,5
9		3:7
10	Etil asetat : <i>n</i> -heksana	3,5:6,5
11		4:6
12		4,5:5,5
13		5:5
14		5,5:4,5
15		6:4
16		6,5:3,5
17		7:3
18		8:2
19		9:1
20	Etil asetat	100%
21		1:9
22		2:8
23		3:7
24	Aseton : etil asetat	5:5
25		7:3
26		9:1
27	Aseton	100%
28		1:9
29	Metanol : aseton	2:8
30		4:6
31		5:5
32	Metanol : aseton	7:3
33		8:2
34		9:1
35	Metanol	100%

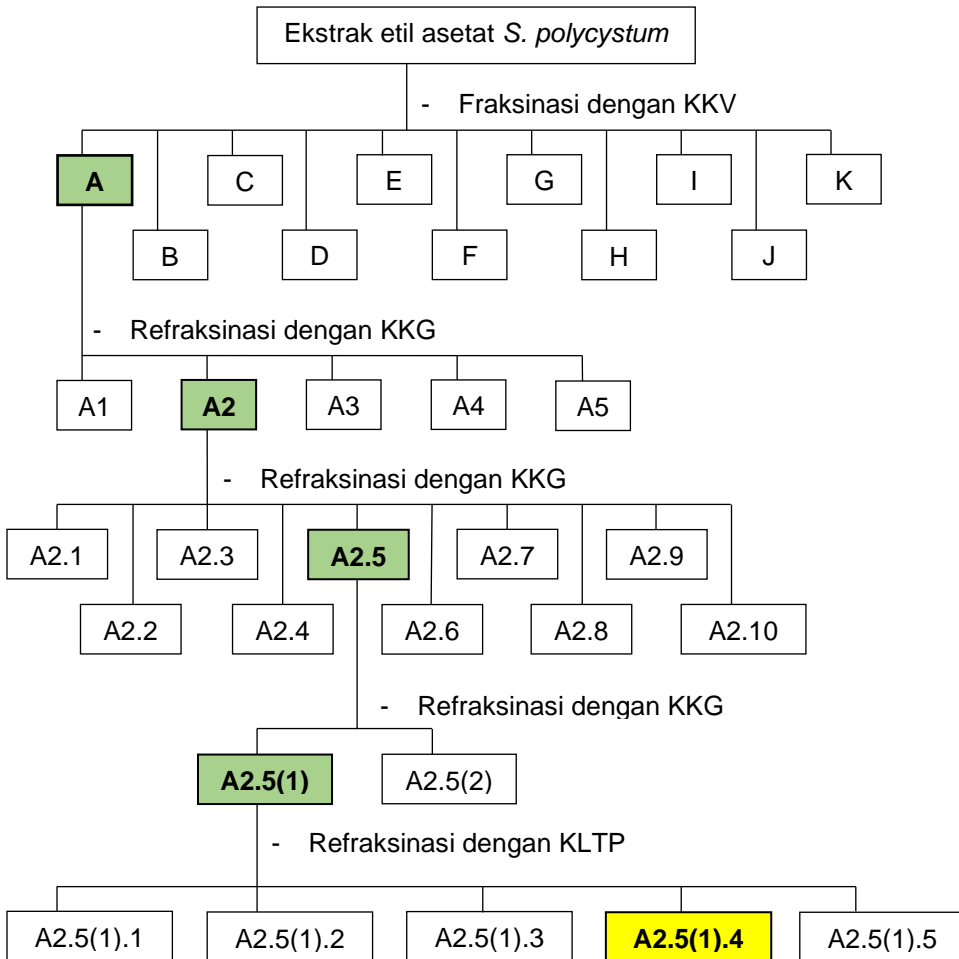
Lampiran 6. Eluen pada proses fraksinasi untuk fraksi A

Kode Fraksi	Eluen	Perbandingan Eluen
A.1	<i>n</i> -heksana	100%
A.2		
A.3	Etil asetat : <i>n</i> -heksana	0,2:9,8
A.4		
A.5		0,5:9,5
A.6		
A.7		0,5:9,5
A.9		
A.9		0,7:9,3
A.10		
A.10		0,8:9,2
A.11	Etil asetat : <i>n</i> -heksana	
A.12		1:9
A.13		1,3:8,7
A.14		1,5:8,5
A.15		2:8
A.16		3:7
A.17		5:5
A.18	Etil asetat	100%
A.19		1:9
A.20		3:7
A.21	Aseton : etil asetat	5:5
A.22		7:3
A.23		9:1
A.24	Aseton	100%
A.25		2:8
A.26	Metanol : aseton	5:5
A.27	Metanol	100%

Lampiran 7. Eluen pada proses KKG fraksi A2

Kode Fraksi	Eluen	Perbandingan Eluen
A2.1	<i>n</i> -heksana	100%
A2.2		0,2:9,8
A2.3	Etil asetat : <i>n</i> -heksana	
A2.4		0,5:9,5
A2.5		0,5:9,5
A2.6		0,5:9,5
A2.7		0,7:9,3
A2.8	Etil asetat : <i>n</i> -heksana	
A2.9		0,8:9,2
A2.10		

Lampiran 8. Bagan alir isolasi isolasi A2.5.(1).4



Keterangan:

: Fraksi yang dilanjutkan

: Isolat

Lampiran 9. Perhitungan pembuatan larutan pengujian antibakteri**a. Pembuatan 1 mL Larutan Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 1000 ppm**

$$\frac{x \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} = 1.000 \text{ ppm}$$

$$x \mu\text{g} = 1.000 \mu\text{g}$$

$$= 1 \text{ mg}$$

b. Pembuatan 1 mL Larutan Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 100 ppm

Konsentrasi akhir 100 ppm dari 1000 ppm

$$V1 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}$$

$$V1 \text{ mL} = \frac{100}{1000}$$

$$V1 \text{ mL} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 1000 ppm dipipet sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 1 mL dengan pelarut DMSO

c. Pembuatan 1 mL Larutan Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 10 ppm

Konsentrasi akhir 10 ppm dari 100 ppm

$$V1 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}$$

$$V1 \text{ mL} = \frac{10}{100}$$

$$V1 \text{ mL} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 100 ppm dipipet sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 1 mL dengan pelarut DMSO

d. Pembuatan 1 mL Larutan Isolat A2.5(1).4 1000 ppm

$$\frac{x \mu\text{g}}{1 \text{ mL}} = 1.000 \text{ ppm}$$

$$x \mu\text{g} = 1.000 \mu\text{g}$$

$$= 1 \text{ mg}$$

e. Pembuatan 1 mL Larutan Isolat A2.5(1).4 1000 ppm

Konsentrasi akhir 100 ppm dari 1000

$$V_1 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}$$

$$V_1 \text{ mL} = \frac{100}{1000}$$

$$V_1 \text{ mL} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 1000 ppm dipipet sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 1 mL dengan pelarut DMSO

f. Pembuatan 1 mL Larutan Isolat A2.5(1).4 100 ppm

Konsentrasi akhir 10 ppm dari 100

$$V_1 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm} \times 1 \text{ mL}$$

$$V_1 \text{ mL} = \frac{10}{100}$$

$$V_1 \text{ mL} = 0,1 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 100 ppm dipipet sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 1 mL dengan pelarut DMSO

Lampiran 10. Perhitungan pembuatan larutan induk dan deret uji antiinflamasi

a. Pembuatan 3 mL Larutan Induk Kontrol Positif Natrium Diklofenak 10.000 ppm

$$\frac{x \mu\text{g}}{3 \text{ mL}} = 10.000 \text{ ppm}$$

$$x \mu\text{g} = 30.000 \mu\text{g}$$

$$= 3 \text{ mg}$$

b. Pembuatan 3 mL Larutan Kontrol Positif Natrium Diklofenak 500 ppm

Konsentrasi akhir 500 ppm dari 10.000 ppm

$$V1 \text{ mL} \times 10.000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V1 \text{ mL} = \frac{1500}{10.000}$$

$$V1 \text{ mL} = 0,15 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,15 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

c. Pembuatan 3 mL Larutan Kontrol Positif Natrium Diklofenak 125 ppm

Konsentrasi akhir 125 ppm dari 500 ppm

$$V1 \text{ mL} \times 500 \text{ ppm} = 125 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V1 \text{ mL} = \frac{375}{500}$$

$$V1 \text{ mL} = 0,75 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 500 ppm dipipet sebanyak 0,75 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

d. Pembuatan 3 mL Larutan Kontrol Positif Natrium Diklofenak 31,25 ppm

Konsentrasi akhir 31,25 ppm dari 125 ppm

$$V_1 \text{ mL} \times 125 \text{ ppm} = 31,25 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 \text{ mL} = \frac{93,75}{125}$$

$$V_1 \text{ mL} = 0,75 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 125 ppm dipipet sebanyak 0,75 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

e. Pembuatan 3 mL Larutan Induk Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 10.000 ppm

$$\frac{x \mu\text{g}}{3 \text{ mL}} = 10.000 \text{ ppm}$$

$$x \mu\text{g} = 30.000 \mu\text{g}$$

$$= 3 \text{ mg}$$

f. Pembuatan 3 mL Larutan Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 2000 ppm

Konsentrasi akhir 2000 ppm dari 10.000 ppm

$$V_1 \text{ mL} \times 10.000 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 \text{ mL} = \frac{6000}{10.000}$$

$$V_1 \text{ mL} = 0,6 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,6 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

g. Pembuatan 3 mL Larutan Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 1000 ppm

Konsentrasi akhir 1000 ppm dari 2000 ppm

$$V_1 \text{ mL} \times 2000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 \text{ mL} = \frac{3000}{2000}$$

$$V_1 \text{ mL} = 1,5 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 2000 ppm dipipet sebanyak 1,5 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

h. Pembuatan 3 mL Larutan Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 500 ppm

Konsentrasi akhir 500 ppm dari 1000 ppm

$$V_1 \text{ mL} \times 1000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V_1 \text{ mL} = \frac{1500}{1000}$$

$$V_1 \text{ mL} = 1,5 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 1000 ppm dipipet sebanyak 1,5 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

i. Pembuatan 3 mL Larutan Induk Isolat A2.5(1).4 10.000 ppm

$$\frac{x \mu\text{g}}{3 \text{ mL}} = 10.000 \text{ ppm}$$

$$x \mu\text{g} = 30.000 \mu\text{g}$$

$$= 3 \text{ mg}$$

j. Pembuatan 3 mL Larutan Isolat A2.5(1).4 500 ppm

Konsentrasi akhir 500 ppm dari 10.000 ppm

$$V1 \text{ mL} \times 10.000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V1 \text{ mL} = \frac{1500}{10.000}$$

$$V1 \text{ mL} = 0,15 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 10.000 ppm dipipet sebanyak 0,15 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

k. Pembuatan 3 mL Larutan Isolat A2.5(1).4 250 ppm

Konsentrasi akhir 250 ppm dari 500 ppm

$$V1 \text{ mL} \times 500 \text{ ppm} = 250 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V1 \text{ mL} = \frac{750}{500}$$

$$V1 \text{ mL} = 1,5 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 500 ppm dipipet sebanyak 1,5 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

l. Pembuatan 3 mL Larutan Isolat A2.5(1).4 125 ppm

Konsentrasi akhir 125 ppm dari 250 ppm

$$V1 \text{ mL} \times 250 \text{ ppm} = 125 \text{ ppm} \times 3 \text{ mL}$$

$$V1 \text{ mL} = \frac{375}{250}$$

$$V1 \text{ mL} = 1,5 \text{ mL}$$

Jadi, dari larutan 250 ppm dipipet sebanyak 1,5 mL dan dicukupkan volumenya menjadi 3 mL dengan pelarut DMSO

Lampiran 11. Perhitungan pembuatan larutan uji setelah penambahan BSA 0,2%

a. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Kontrol Positif Natrium Diklofenak 50 ppm

Konsentrasi akhir 50 ppm

$$C1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 50 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C1 \text{ ppm} = \frac{250}{0,5}$$

$$C1 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

Jadi dari 500 ppm diencerkan menjadi 50 ppm, berarti dari 500 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

b. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Kontrol Positif Natrium Diklofenak 12,5 ppm

Konsentrasi akhir 50 ppm

$$C1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 12,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C1 \text{ ppm} = \frac{62,5}{0,5}$$

$$C1 \text{ ppm} = 125 \text{ ppm}$$

Jadi dari 125 ppm diencerkan menjadi 12,5 ppm, berarti dari 125 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

c. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Kontrol Positif Natrium Diklofenak 3,125 ppm

Konsentrasi akhir 3,125 ppm

$$C1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 3,125 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C1 \text{ ppm} = \frac{9,375}{0,5}$$

$$C1 \text{ ppm} = 31,25 \text{ ppm}$$

Jadi dari 31,25 ppm diencerkan menjadi 3,125 ppm, berarti dari 31,25 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

d. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 200 ppm

Konsentrasi akhir 200 ppm

$$C_1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 200 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C_1 \text{ ppm} = \frac{1000}{0,5}$$

$$C_1 \text{ ppm} = 2000 \text{ ppm}$$

Jadi dari 2000 ppm diencerkan menjadi 200 ppm, berarti dari 2000 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

e. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 100 ppm

Konsentrasi akhir 100 ppm

$$C_1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 100 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C_1 \text{ ppm} = \frac{500}{0,5}$$

$$C_1 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

Jadi dari 1000 ppm diencerkan menjadi 100 ppm, berarti dari 1000 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

f. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 50 ppm

Konsentrasi akhir 50 ppm

$$C_1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 50 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C_1 \text{ ppm} = \frac{250}{0,5}$$

$$C_1 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

Jadi dari 500 ppm diencerkan menjadi 50 ppm, berarti dari 500 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

g. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Isolat A2.5(1).4 50 ppm

Konsentrasi akhir 50 ppm

$$C1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 50 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C1 \text{ ppm} = \frac{250}{0,5}$$

$$C1 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

Jadi dari 500 ppm diencerkan menjadi 50 ppm, berarti dari 500 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

h. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Isolat A2.5(1).4 25 ppm

Konsentrasi akhir 25 ppm

$$C1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 25 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C1 \text{ ppm} = \frac{750}{0,5}$$

$$C1 \text{ ppm} = 250 \text{ ppm}$$

Jadi dari 250 ppm diencerkan menjadi 25 ppm, berarti dari 250 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

i. Pembuatan 5 mL Larutan Uji Isolat A2.5(1).4 12,5 ppm

Konsentrasi akhir 12,5 ppm

$$C1 \text{ ppm} \times 0,5 \text{ mL} = 12,5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$C1 \text{ ppm} = \frac{62,5}{0,5}$$

$$C1 \text{ ppm} = 125 \text{ ppm}$$

Jadi dari 125 ppm diencerkan menjadi 12,5 ppm, berarti dari 125 ppm diambil sebanyak 0,5 mL (500 μ L) lalu dicukupkan dengan BSA 0,2% hingga 5 mL

Lampiran 12. Perhitungan persen daya hambat uji antiinflamasi

a. Daya Hambat Kontrol Negatif

$$\begin{aligned} \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,77 - 1,77}{1,77} \times 100 \% \\ &= 0 \% \end{aligned}$$

b. Daya Hambat Kontrol Positif 3,125 ppm

$$\begin{aligned} \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,77 - 1,646}{1,77} \times 100 \% \\ &= 6,96 \% \end{aligned}$$

c. Daya Hambat Kontrol Positif 12,5 ppm

$$\begin{aligned} \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,77 - 1,443}{1,77} \times 100 \% \\ &= 18,47 \% \end{aligned}$$

d. Daya Hambat Kontrol Positif 50 ppm

$$\begin{aligned} \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,77 - 0,665}{1,77} \times 100 \% \\ &= 62,42 \% \end{aligned}$$

e. Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 50 ppm

$$\begin{aligned}
 \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,77 - 1,732}{1,77} \times 100 \% \\
 &= 2,17 \%
 \end{aligned}$$

f. Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 100 ppm

$$\begin{aligned}
 \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,77 - 1,276}{1,77} \times 100 \% \\
 &= 27,91 \%
 \end{aligned}$$

g. Daya Hambat Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum* 200 ppm

$$\begin{aligned}
 \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,77 - 0,494}{1,77} \times 100 \% \\
 &= 72,09 \%
 \end{aligned}$$

h. Daya Hambat Isolat A2.5(1).4 12,5 ppm

$$\begin{aligned}
 \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,77 - 1,611}{1,77} \times 100 \% \\
 &= 5,76 \%
 \end{aligned}$$

i. Daya Hambat Isolat A2.5(1).4 25 ppm

$$\begin{aligned}
 \text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,77 - 1,646}{1,77} \times 100 \% \\
 &= 6,96 \%
 \end{aligned}$$

j. Daya Hambat Isolat A2.5(1).4 50 ppm

$$\begin{aligned}\text{Daya Hambat (\%)} &= \frac{\text{Abs. kontrol negatif} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. kontrol negatif}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,77 - 1,095}{1,77} \times 100 \% \\ &= 28,66 \%\end{aligned}$$

Lampiran 13. Perhitungan nilai IC₅₀ uji antiinflamasi

a. Nilai IC₅₀ kontrol positif

Persamaan umum garis lurus adalah $y = bx + a$

Nilai y bernilai 50 untuk menghitung IC₅₀

Jika nilai persamaan regresinya adalah $y = 1,18x + 3,4717$, maka:

Nilai a = 3,4717

Nilai b = 1,18

$$\begin{aligned} \text{IC}_{50} &= \frac{y - a}{b} \\ &= \frac{50 - 3,4717}{1,18} \\ &= 39,43 \text{ ppm} \end{aligned}$$

b. Nilai IC₅₀ Ekstrak Etil Asetat *S. polycystum*

Persamaan umum garis lurus adalah $y = bx + a$

Nilai y bernilai 50 untuk menghitung IC₅₀

Jika nilai persamaan regresinya adalah $y = 0,4643x - 20,5$, maka:

Nilai a = -20,5

Nilai b = 0,4643

$$\begin{aligned} \text{IC}_{50} &= \frac{y - a}{b} \\ &= \frac{50 - (-20,5)}{0,4643} \\ &= 151,84 \text{ ppm} \end{aligned}$$

c. Nilai IC₅₀ Isolat A2.5(1).4

Persamaan umum garis lurus adalah $y = bx + a$

Nilai y bernilai 50 untuk menghitung IC₅₀

Jika nilai persamaan regresinya adalah $y = 0,6359x - 4,081$, maka:

Nilai a = -4,081

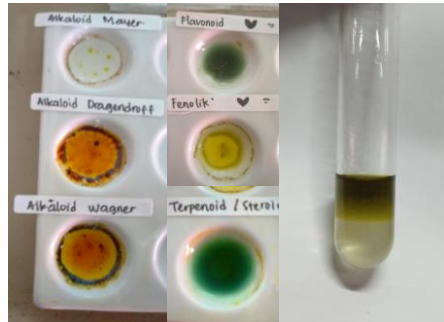
Nilai b = 0,6359

$$\begin{aligned} \text{IC}_{50} &= \frac{y - a}{b} \\ &= \frac{50 - (-4,081)}{0,6359} \\ &= 85,04 \text{ ppm} \end{aligned}$$

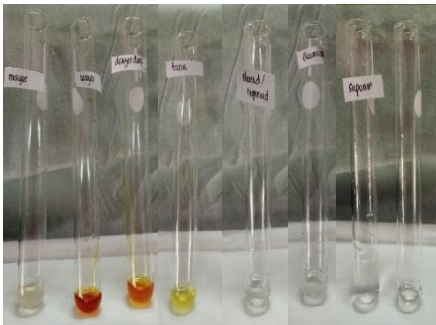
Lampiran 14. Dokumentasi penelitian



Preparasi Sampel *S. polycystum*



Uji Fitokimia Ekstrak



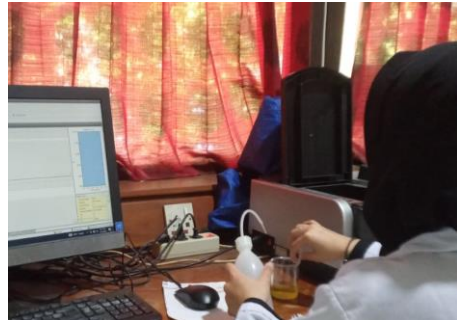
Uji Fitokimia Isolat



Pembuatan Media Agar Uji Antibakteri



Pengujian Antibakteri



Pengujian Antiinflamasi