

**EFEKTIFITAS ALGA MERAH *Eucheuma spinosum*
SEBAGAI ANTI BAKTERI PATOGEN PADA ORGANISME
BUDIDAYA PESISIR DAN MANUSIA**

***EFFECTIVENESS OF RED ALGAE (Eucheuma spinosum)
AS PATHOGENIC ANTIBACTERIAL IN COASTAL
ORGANISMS AND HUMAN***

**AFHARIMAN FATTAH
P0304210001**



**PROGRAM STUDI PENGELOLAAN LINGKUNGAN HIDUP
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

LEMBAR PENGESAHAN

Tesis

Efektifitas Alga Merah *Eucheuma Spinosum* Sebagai Anti Bakteri Patogen Pada Organisme Budidaya Pesisir Dan Manusia

Disusun dan diajukan oleh

AFHARIMAN FATTAH

Nomor Pokok P0304210001

telah dikonsultasikan dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,

Prof. Dr. Drh. Lucia Muslimin

Ketua

Prof. Dr. Sharifuddin Bin Andy Omar

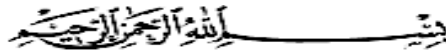
Anggota

Ketua Program Studi

Pengelolaan Lingkungan Hidup,

Prof. Dr. Ir. Ngakan Putu Oka, M.Sc

PRAKATA



Alhamdulillah rabbil alamin, penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena hidayah dan taufik-Nya sehingga tesis ini dapat terwujud walaupun dalam bentuk yang sederhana. Shawalat dan Salam sejahtera semoga dilimpahkan kepada Nabi Muhammad Saw. kepada seluruh keluarga dan sahabatnya yang telah memberikan tuntunan Syari'at Islam dengan sebaik-baiknya..

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini hambatan akan banyak dilalui dan itu adalah suatu hal yang wajar. Oleh karena itu, tidak mengherankan bila dalam tesis ini banyak dijumpai kesalahan dan kekurangan, baik dari segi gramatika maupun dari segi teknik penulisan. Hal ini disebabkan ilmu pengetahuan dan pengalaman yang penulis miliki masih kurang. Namun segala kemampuan yang ada sehingga segala hambatan dan kesulitan dapat diatasi.

Secara jujur penulis akui bahwa tesis ini, tidak mungkin terselesaikan sebagaimana mestinya jika tidak ditunjang oleh bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Orang tua kami Drs. H. Abdul Fattah dan Almh. Dra. Hj. Chamsinah Manguluang Fattah atas segala pengorbanannya selama ini.
2. Isteriku yang cantik dan penuh pengertian Monieqa Faradina, SH, anakku Khanza "shae" Malahayati Al Fattah serta keponakanku Alisa "lulu" Luvita Amalia Santosa yang membuat hidupku berwarna, ceria dan selalu tersenyum.
3. Adikku Afharida Karyani Fattah, SKM dan suaminya Muhammad Aswar, SE dan Afhariadi Satya Wisudawan Fattah, A.Md dan isterinya Suci Bayuningtyas, ST beserta putra Muhammad "rafa" Raffasah Afhariadi, serta iye ku Siti Apas, tak lupa juga buat bibi yang telah menemani kami selama mengerjakan tugas sehari-hari.
4. Komisi penasehat, pembimbing I Prof. Dr. drh. Lucia R. Winata Muslimin, M.Sc, dan pembimbing II Prof. Dr. Ir. Sharifuddin Bin Andy Omar, M.Sc, yang penulis anggap sebagai orang tua di kampus. Terima kasih yang terkhusus sedalam-dalamnya, setinggi-tingginya dan sebesar-besarnya karena beliau telah meluangkan waktu, tenaga, perhatian, ilmu serta bersedia bertukar fikiran dalam melihat dan menelaah topik penelitian, sehingga penulis mampu mendesain, mengerjakan, mengembangkan dan menyelesaikan tesis ini.
5. Teman-teman mahasiswa dan alumni PLH 2010, yang telah membantu dalam rangka penulisan tesis ini.

6. Anggota Mardhiyyah FC, atas pengertian jikalau sang pelatih lebih mendahulukan kelanjutan pendidikannya daripada kepentingan tim.

Terakhir ucapan terima kasih juga disampaikan kepada mereka yang namanya tidak tercantum tetapi telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini. Tak lupa penulis mengharapkan kritikan dan saran terhadap tesis yang telah dibuat ini.

Makassar, Kamis 2 Mei 2013

Afhariman Fattah

ABSTRAK

AFHARIMAN FATTAH, Efektifitas Alga Merah *Eucheuma spinosum* Sebagai Anti Bakteri Patogen Pada Organisme Budidaya Pesisir Dan Manusia (dibimbing oleh Lucia Muslimin dan Sharifuddin Bin Andy Omar)

Penelitian ini bertujuan untuk (1) Untuk menguji aktivitas alga merah *Eucheuma spinosum* terhadap bakteri patogen pada organisme budidaya dan manusia, (2) Untuk mendapatkan tingkat aktivitas antibakteri alga merah *Eucheuma spinosum* terhadap bakteri patogen *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* (3) Untuk mengetahui jenis ekstrak alga merah *Eucheuma spinosum* yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi.

Penelitian ini berlangsung selama tiga bulan, dimulai pada bulan Juni hingga bulan Agustus 2012. Pelaksanaan penelitian dilakukan di beberapa laboratorium, diantaranya: Laboratorium Kualitas Air Jurusan Perikanan Universitas Hasanuddin, Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, dan Laboratorium Kesehatan, Departemen Kesehatan Propinsi Sulawesi Selatan dengan sampel diambil dari Desa Punaga, Kecamatan Magarabombang, Kabupaten Takalar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif eksploratif. Penelitian dimulai dengan ekstraksi *Eucheuma spinosum* dengan proses maserasi kinetik. Ekstrak yang didapat diujikan pada bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* pelarut heksana, metanol dan etanol pada konsentrasi 0,4%, 4% dan 40% per pelarut.

Hasil menunjukkan bahwa ekstrak heksana *Eucheuma spinosum* tidak mempunyai daya hambat pada bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak etanol dan metanol *Eucheuma spinosum* mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0,4%, 4% dan 40%. Daya hambat terbesar ditemukan pada ekstrak metanol dengan konsentrasi 40% untuk jenis bakteri *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

AFHARIMAN FATTAH, Affectivity of red alga *Eucheuma spinosum* as pathogenic Antibacterial in Coastal Organisms and human. (under counselor by Lucia Muslimin and Sharifuddin Bin Andy Omar)

These aim of this research are (1) to testing activity of red alga *Eucheuma spinosum* against pathogenic Antibacterial in Coastal Organisms and human, (2) to get activity range of red alga *Eucheuma spinosum* against pathogenic bacteria *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* (3) to get kind of extract from red alga *Eucheuma spinosum* were have higher activity as antibacterial.

These researches begin in June until August 2012 in Water Quality Laboratory, Marine Science Faculty, Fitokimia Laboratory, Pharmacy Faculty, Microbiology Laboratory, Medicine Faculty, Hasanuddin University. Sampel take from Punaga Village, Mangarabombang District, Takalar Regency. Method were we using are descriptive explorative. This research starting with extracting of red alga *Eucheuma spinosum* using kinetic maseration. The extract testing to *Vibrio cholerae* and *Staphylococcus aureus* with using different solvent, such us hexane, methanol and ethanol in 0,4%, 4% dan 40% concentration per every solvent.

The result showing that hexane extracts of *Eucheuma spinosum* did not have inhibition zone *Vibrio cholerae* and *Staphylococcus aureus*. Methanol and ethanol extract have inhibition zone to *Vibrio cholerae* and *Staphylococcus aureus* in 0,4%, 4% and 40% concentration. Higher inhibition zone found in methanol extract 40% for *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PRAKATA	iii
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan dan Kegunaan	3
D. Manfaat Penelitian	4
D. Hipotesis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Aspek Biologi <i>Eucheuma spinosum</i>	5
B. Kandungan Kimia dan Bioaktivitas <i>Eucheuma spinosum</i>	7
C. Jenis Bakteri Patogen Pada Organisme Budidaya Perairan	16
D. Kerangka Pikir Penelitian	22
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	24
A. Waktu dan Lokasi Penelitian	24
B. Alat dan Bahan	24
C. Prosedur Penelitian	25
1. Persiapan dan ekstraksi alga merah <i>Eucheuma spinosum</i>	25
2. Uji antibakteri dengan metode difusi agar	26
BAB. IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
BAB. V. KESIMPULAN DAN SARAN	34
A. Kesimpulan	34

B. Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

1. Jenis pelarut yang digunakan dalam purifikasi produk alami	11
2. Struktur rangka senyawa fenol dan polyfenol	13
3. Diameter Zona Hambat.	27
4. Berat basah, berat kering, berat serbuk, berat ekstrak dari <i>Eucheuma Spinosum</i> .	28
5. Diameter daya hambat dari <i>Eucheuma spinosum</i> .terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Vibrio cholerae</i>	29
6. Tahap keefektifan ekstrak <i>Eucheuma spinosum</i> sebagai antimikroba	31

DAFTAR GAMBAR

1. Morfologi Alga Merah <i>Eucheuma spinosum</i>	7
2. Struktur kimiawi (1) λ -karaginan (2), κ - karaginan (3) ι - karaginan (4). Antiviral terhadap HSV tipe 1 dan 2 (5) antiviral terhadap sel kanker kolorektal (6) struktur antelmintik (7) siklo depsipectida kahalalide A dan (8) F (9) senyawa halogen dari <i>Delisea pulchra</i> yang berfungsi sebagai antifouling	8
3. Struktur mayor flavonoid	14
4. Struktur minor flavonoid	14
5. 2,4,6 tribromophenol	15
6. Morfologi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	16
7. Morfologi Bakteri <i>Vibrio cholerae</i>	17
8. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	18
9. Kerangka pikir penelitian	23

DAFTAR LAMPIRAN

1. Konsentrasi 0,4% pada <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Vibrio cholera</i>	41
2. Konsentrasi 4% pada <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Vibrio cholera</i>	42
3. Konsentrasi 40% pada <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Vibrio cholera</i>	43
3. 4.Diameter zona hambat dan zona halo dari ekstrak <i>Ulva. reticulata</i> terhadap bakteri <i>Vibrio alginoliticus</i> dengan menggunakan pelarut heksana, etanol dan metanol	44

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia sebagai salah satu negara kepulauan terbesar di dunia, Indonesia menggantungkan sumber pendapatan negara dari pemanfaatan sumber daya hayati perairan, khususnya sumber daya perikanan. Namun, meningkatnya usaha budidaya organisme perikanan di Indonesia diikuti dengan meningkatnya penyakit yang ditimbulkan oleh golongan parasit, bakteri, virus dan jamur. Umumnya faktor penyebab timbulnya wabah penyakit pada usaha budidaya di wilayah pesisir adalah populasi yang terlalu padat, kesalahan dalam pemberian pakan, dan rendahnya kualitas air.

Wabah penyakit dari parasit, bakteri, virus dan jamur dapat berdampak langsung ke manusia lewat makanan. Makanan dan minuman yang terkontaminasi dapat menyebabkan berubahnya makanan tersebut menjadi media bagi suatu penyakit. Penyakit yang ditimbulkan oleh makanan yang terkontaminasi disebut penyakit bawaan makanan (*food-borne diseases*) (Julian, 2011; Prihanto, 2012).

Masalah terbesar penyebab kegagalan budidaya organisme perairan adalah timbulnya penyakit, baik infeksi maupun noninfeksi. Faktor utama penyebab timbulnya wabah penyakit pada usaha organisme budidaya pesisir yang dilakukan adalah densitas populasi yang terlalu padat, kualitas dan kuantitas pakan, dan rendahnya kualitas air. Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh serangan agen patogen, seperti virus, bakteri, parasit dan jamur. Salah satu bakteri yang paling umum menyerang organisme budidaya

dan menyebabkan kematian massal pada larva udang pnaeid adalah bakteri patogen *Vibrio harveyi*. Umumnya serangan terjadi pada stadia zoea, misis dan awal pasca larva.

Berbagai usaha telah dilakukan dalam budidaya perikanan untuk mengendalikan serangan bakteri patogen, diantaranya dengan pemakaian antibiotik sintetik yang bersifat bakteristatik atau bakterisida. Penggunaan antibiotik kimiawi dalam pengendalian penyakit dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, bahkan dapat menimbulkan resistensi. Antibiotik yang digunakan akan ikut hanyut diperairan sehingga mengganggu keseimbangan ekosistem perairan disekitar areal budidaya. Selain itu, beberapa bakteri mulai resisten terhadap obat-obat kimia yang dipergunakan. Kendala lain dari penggunaan antibiotik adalah harga antibiotik yang cukup mahal, daya beli yang rendah dan kesulitan dalam pengiriman oleh produsen. Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian senyawa baru sebagai alternatif antibiotik yang bersifat efektif dan aman untuk mengobati penyakit infeksi oleh bakteri patogen pada organisme budidaya pesisir tanpa efek samping.

Alga merah (Rhodophyceae) merupakan salah satu organisme laut yang dapat menyediakan sumber bahan alam dalam jumlah yang melimpah dan mudah untuk dibudidayakan. Untuk mempertahankan diri di dalam habitatnya, alga merah memproduksi berbagai senyawa yang terdiri dari senyawa primer (fikokoloid, vitamin, asam lemak tak jenuh dan karbohidrat) dan senyawa sekunder (terpen) (Simanjuntak, 1995).

Berbagai bahan aktif dari alga telah ditemukan penggunaannya seperti antibakteri (Haniffa dan Kavitha, 2012), antivirus, antijamur, sitotoksik, antialga dan lainnya (Shanmughapriya *et al.*, 2008, Vallinayagam *et al.*, 2009). Selama ini,

penelitian yang telah dilakukan hanya ditujukan untuk mengetahui tingkat kualitas karagenan dari *Eucheuma spinosum*, sedangkan kemampuannya sebagai antibakteri terhadap organisme budidaya perairan dan manusia masih kurang dilakukan.

B. Rumusan Masalah

Pada pemanfaatan sumber daya perairan, penyakit oleh bakteri patogen merupakan salah satu masalah terbesar yang dapat mempengaruhi hasil budidaya dan juga dapat berdampak langsung ke manusia. Rumusan masalah adalah sebagai berikut:

1. Apakah alga merah *E. spinosum* dari Kabupaten Takalar memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri patogen?
2. Seberapa besar tingkat aktivitas alga merah *E. spinosum* sebagai antibakteri dalam melawan bakteri patogen *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus*?
3. Ekstrak alga merah *E. spinosum* yang manakah mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk menguji aktivitas alga merah *E. spinosum* terhadap bakteri patogen pada organisme budidaya dan manusia
2. Untuk mendapatkan tingkat aktivitas antibakteri alga merah *E. spinosum* terhadap bakteri patogen *V. cholerae* dan *S. aureus*
3. Untuk mengetahui jenis ekstrak alga merah *E. spinosum* yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi

D. Manfaat Penelitian

1. Alga merah *E. spinosum* berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan aktif antibakteri
2. Alga merah *E. spinosum* dapat digunakan dalam bentuk ekstrak untuk menghambat bakteri patogen pada organisme budidaya
3. Informasi kepada masyarakat, peneliti bidang perikanan dan farmasi sebagai bahan rujukan tentang kemungkinan alga merah *E. spinosum* sebagai antibakteri.

E. Hipotesis

Ekstrak *E. spinosum* diduga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri melawan *V. cholerae*, dan *S. aureus*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Aspek Biologi *Eucheumaspinosum*

Makroalga (Phycophyta) merupakan salah satu organisme laut yang berperan dalam siklus rantai makanan sebagai produser. Secara umum, definisi alga adalah kelompok tanaman tingkat rendah bersifat fototrof yang tidak mempunyai akar, daun dan batang sejati, namun memiliki talus yang berfungsi sebagai alat vegetatif (Thallophyta). Berdasarkan warna pigmen fotosintesa yang dimilikinya, rumput laut dikelompokkan atas tiga kelompok besar yaitu rumput laut merah (Rhodophyceae), rumput laut hijau (Chlorophyceae), dan rumput laut coklat (Phaeophyceae) (Kahispama, 2011).

Alga merupakan kelompok tumbuh-tumbuhan berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel, berbentuk koloni, terdapat pada perairan dangkal dengan dasar perairan berpasir, berlumpur atau pasir-berlumpur (Afrianto dan Liviawati, 1993). Alga hidup pada daerah yang dapat ditembusi sinar cahaya matahari. Jenis tumbuhan alga sangat beragam, mulai dari bentuk bulat, pipih, tabung atau seperti ranting yang bercabang-cabang (Winarno, 1990). Pada umumnya, rumput laut mengandung air antara 12,95– 27,50%, protein 1,60 – 10,00%, karbohidrat 32,25 – 63,20%, lemak 3,5 – 11,00%, serat kasar 3,00 – 11,40% dan abu 11,50 – 23,70% (Putro, 1991). Selain karbohidrat, protein, lemak dan serat, rumput laut juga mengandung enzim, asam nukleat, asam amino, vitamin (A, B, C, D, E dan K) dan makromineral seperti nitrogen, oksigen, kalsium dan selenium, serta mikromineral seperti zat besi, magnesium dan natrium. Kandungan asam amino,

vitamin dan mineral rumput laut mencapai 10-20 kali lipat dibandingkan dengan tanaman darat (Yudhi, 2009).

Euclima lebih dikenal dengan nama daerah agar-agar. Rumput laut ini umumnya berwarna coklat tua, hijau coklat, hijau kuning, atau merah ungu. *Euclima* biasa ditemukan di bawah air surut rata-rata pada pasang surut bulan-setengah. Alga ini mempunyai tallus yang silindris berdaging dan kuat dengan bintil-bintil atau duri-duri yang runcing (*spinosum*) mencuat ke samping, sedangkan jenis lain memiliki tallus yang licin. Selain warna merah, alga juga berwarna coklat kehijau-hijauan kotor atau abu-abu dengan bercak merah. Habitat khas dari *Euclima* adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap, lebih menyukai variasi suhu harian yang kecil dan substrat batu karang mati. Di Indonesia tercatat empat jenis *Euclima*, yakni *E. spinosum*, *E. edule*, *E. alvarezii* (*Kappaphycus alvarezii*) dan *E. serra*.

Ciri-ciri alga jenis *E. spinosum* yaitu tallus silindris, percabangan tallus berujung runcing atau tumpul; dan ditumbuhi nodulus (tonjolan-tonjolan), berupa duri lunak yang tersusun berputar teratur mengelilingi cabang. Jaringan tengah terdiri dari filamen tidak berwarna serta dikelilingi oleh sel-sel besar, lapisan korteks, dan lapisan epidermis (luar). Pembelahan sel terjadi pada bagian apikal tallus. *Euclima spinosum* tumbuh melekat pada rata-rata terumbu karang, batu karang, batuan, tali, benda keras dan cangkang kerang. *E. spinosum* memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis sehingga hanya hidup pada lapisan fotik.



Gambar 1. Morfologi Alga Merah *E. spinosum*

Adapun klasifikasi *E. spinosum* adalah:

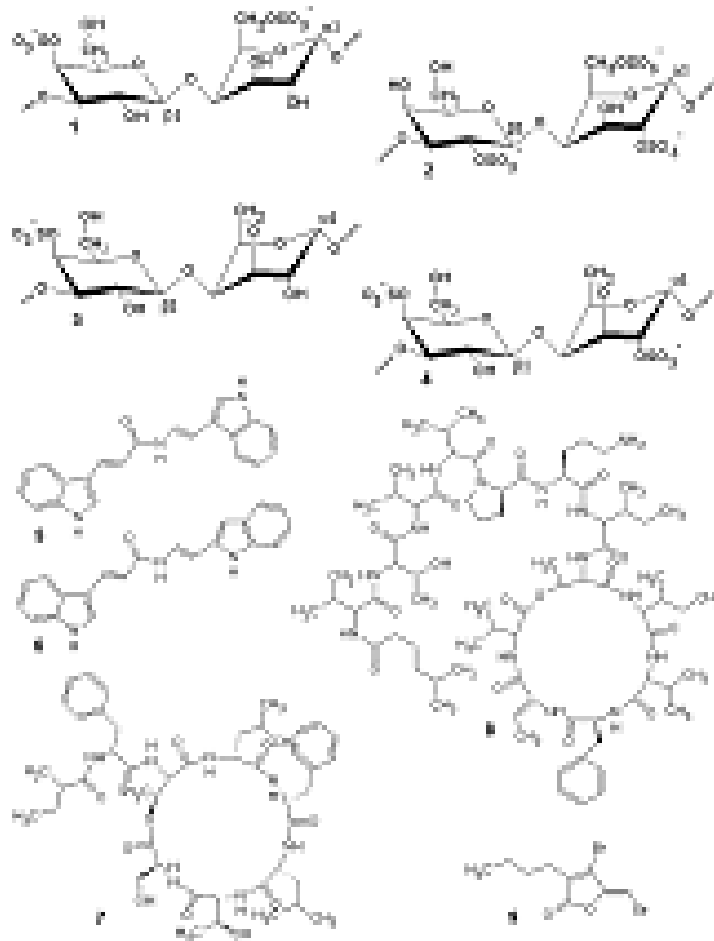
Kingdom : Plantae
Divisi : Rhodophyta
Kelas : Rhodophyceae
Ordo : Gigartinales
Famili : Solieracea
Genus : Eucheuma
Species : *Eucheuma spinosum* J. Agardh 1852 (Alga Data Base, 2012)

B. Kandungan Kimia dan Bioaktivitas *Eucheuma spinosum*

Berbagai metode digunakan untuk mengeluarkan senyawa yang terdapat dalam sel tubuh alga. Metode itu dikenal sebagai proses ekstraksi dengan menggunakan berbagai macam pelarut. Beberapa uji telah dilakukan oleh peneliti terhadap alga dengan menggunakan berbagai macam pelarut, menunjukkan bahwa tanaman ini berpotensi sebagai produser metabolit bioaktif seperti antibakteri, antivirus, antijamur, antiplasmodium, sitostatik/sitotoksik dan antialga.

Sejak dahulu kala, alga telah dikenal oleh nenek moyang bangsa Indonesia sebagai bahan makanan. Pemanfaatan alga di bidang industri dimulai sekitar abad ke-18 dengan menghasilkan produk fikokoloid seperti agar, karaginan dan alginat, produk-produk tersebut digunakan sebagai bahan obat-

obatan, misalnya sebagai pembalut luka primer dan obat untuk luka yang terinfeksi (Mutia *et al.*, 2011). Sifat alga yang tidak toksik membuat fikokoloid alga dapat digunakan sebagai sumber nutrisi rendah kalori dan penstabil dalam industri kuliner.



Gambar 2. Struktur kimiawi (1) λ-karaginan (2), κ- karaginan (3) ι-karaginan (4). Antiviral terhadap HSV tipe 1 dan 2 (5) antiviral terhadap sel kanker kolorektal (6) struktur antelmintik (7) siklopeptida kahalalide A dan (8) F (9) senyawa halogen dari *Delisea pulchra* yang berfungsi sebagai antifouling (Smit, 2004)

Berdasarkan cara memperolehnya golongan antimikroba terbagi atas antimikroba sintetik, antimikroba semisintetik dan antimikroba. Antimikroba alamiah merupakan suatu produk atau bahan metabolit yang dihasilkan oleh satu

jenis mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Bahan metabolit yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme disebut antibiotika dan cara kerjanya disebut antibiosis. Antibiotika alami antara adalah penisilin, tetrasiklin dan eritromisin (Tortora, 2001).

Bahan antimikroba atau antifungi adalah suatu bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme Pelczar dan Chan (1988). Pemakaian bahan antimikroba merupakan suatu usaha untuk mengendalikan bakteri maupun jamur, yaitu segala kegiatan yang dapat menghambat, membasmi, atau menyingkirkan mikroorganisme. Pengujian aktivitas bahan antimikroba secara *in vitro* dapat dilakukan dengan dua cara yaitu: metode dilusi dan metode difusi agar (Tortora, 2001).

1. Metode dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum) dan KBM (kadar bunuh minimum) dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan jamur adalah merupakan konsentrasi hambat minimum). Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam, dan diamati ada tidaknya koloni jamur yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan pada medium padat yang ditunjukkan dengan tidak

adanya pertumbuhan bakteri adalah merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap bakteri uji.

2. Metode difusi agar

Prinsip dari metode difusi agar adalah menempatkan kertas filter yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada medium lempeng padat yang telah dicampur dengan bakteri yang akan diuji. Medium ini kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar kertas filter. Daerah jernih yang tampak disekeliling kertas filter menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. bakteri yang sensitif terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan sekitar filter, sedangkan bakteri yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi kertas cakram.

Untuk mengekstrak metabolit sekunder dari alga digunakan beberapa macam pelarut. Pelarut yang digunakan menunjukkan kemampuan untuk mengikat senyawa kimiawi tertentu. Untuk mengidentifikasi lebih lanjut digunakan metode adsorbs kromatografi (Sarker *et al.*, 2006). Beberapa hasil penelitian ekstrak dari alga menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri target *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (Arifuddin *et al.*, 2011) *Pseudomonas aeruginosa* (Bai, 2010), *Enterococcus faecium* MB5571 (del Val *et al.*, 2001), *Enterococci* sp., *Proteus* sp., *Streptococcus* sp., *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* sp., *Shewanella* sp., *V. fluvialis*, *V. splendidus* (Karthikaidevi *et al.*, 2009) *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (Ibtissam *et al.*, 2009) *Enterococcus faecalis* (Kolanjinathan dan Stella, 2011, Salem *et al.*, 2011), *Enterobacter* sp. (Priyadharshini *et al.*, 2012), *Chlorella Vulgaris* (Uma *et al.*, 2011) dan *Vibrio Alginolyticus* (Yanuharet *et al.*, 2011). Beberapa penelitian lain

menemukan senyawa dari alga juga mampu menghambat pertumbuhan jamur *Saccharomyces cerevisiae* W303 (del Val *et al.*,2001),*Candida albicans* dan *Malassezia furfur* (Arifuddin *et al.*, 2011).

Tabel 1. Jenis pelarut yang digunakan dalam purifikasi produk alami(Sarker, *et al.*, 2006)










No	Jenis Pelarut	Indeks Polaritas
1.	Asam asetik	6,2
2.	Aseton	5,1
3.	n Butanol	4,0
4.	Chloroform	4,1
5.	Dietil eter	2,8
6.	Etanol	5,2
7.	Heksana	0,0
8.	Metanol	5,1
9.	Etil asetat	4,4
10.	Heksana	9,0

Pada umumnya alga mengandung komponen berupa fukoidan, fukosantin, alginat, fenol, polifenol, tannin, flavanoid, saponin, terpen, karbohidrat, karoten, karotenoid dan kardiak glikosida (Uma *et al.*, 2011), alkaloid (Guvenet *al.*,2010).Fukoidan alga hijau merupakan polisakarida kompleks pada dinding sel alga yang dapat meningkatkan imunitas, mengatasi penyakit dalam

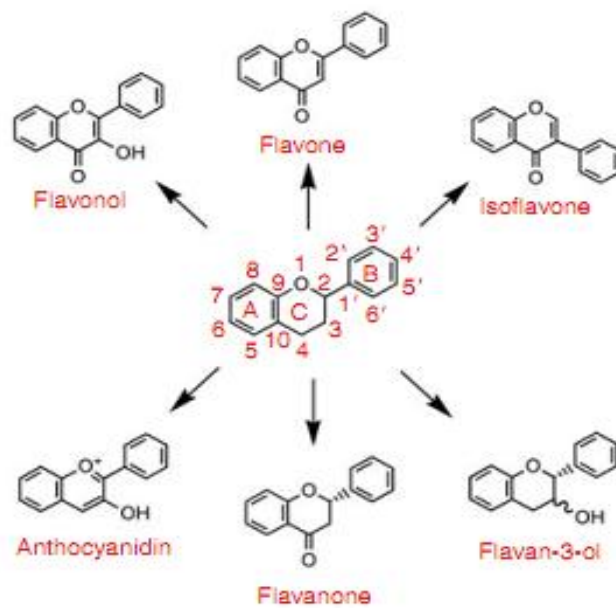
seperti hipertensi, kanker dan memelihara fungsi hati. Bahan alam lain yang terkandung dalam alga adalah substansi allelopatik dengan senyawa etil dan tetraene. Senyawa *allelopatik* yang paling dikenal adalah asam oktadeka-6Z,9Z,12Z,15Z-tetraenoik(ODTA) (Alamsjahet *al.*, 2005). Selain senyawa allelopatik, terdapat juga senyawa asam uronik, rhamnosa, xilosa dan asam glukuronik sebagai unsur utama yang tinggi pada suhu antara 21°C-24°C jika diisolasi pada masa pertumbuhan. Asam ini juga dikenal dengan nama glukuronoxilorham sulfat yang larut dalam air (Siddhanta *et al.*, 2001). Khusus untuk alga merah, zat yang banyak terkandung didalamnya adalah monoterpen, seskuiterpen, diterpen, triterpen, senyawa fenol yang berikatan dengan sulfat, asam heksadekanoat, senyawa aromatik seperti senyawa *bis*(2,3,6-tribromo-4,5-dihidrosibenzil)-eter, 2,3,6-tribromo-5-hidrosibenzil-1'4-disulfat, 3-(dihidroksiasetil)-indol dan bromofenol (Simanjuntak, 1995).

Senyawa fenol adalah senyawa benzena yang mengandung gugus OH- disalah satu atom C yang reaktif berikatan dengan senyawa lain. Senyawa fenol terbagi dua yaitu flavonoid dan non-flavonoid. Senyawa flavonoid adalah senyawa fenol dengan 15 C dengan dua cincin aromatic yang terhubung dengan tiga ikatan atom C. sedangkan senyawa non flavonoid adalah senyawa serat dengan struktur atom C6-C1 yang berikatan.

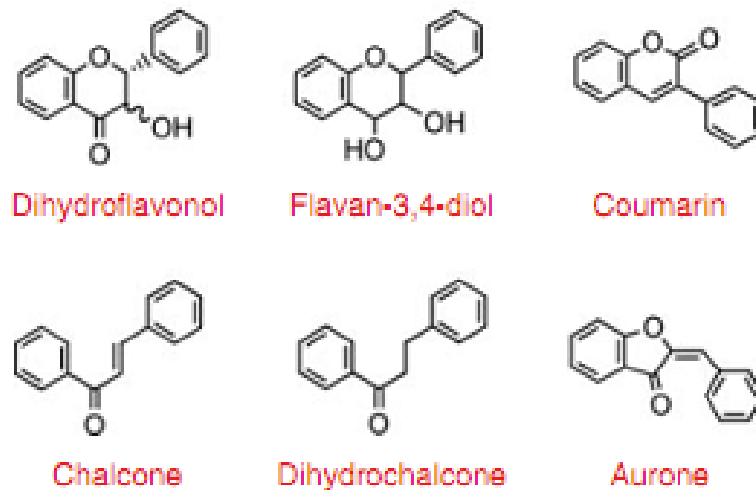
Tabel 2. Struktur rangka senyawa fenol dan polyfenol (Crozier, *et al.*,2006)

Number of carbons	Skeleton	Classification	Example	Basic structure
7	C ₆ -C ₁	Phenolic acids	Gallic acid	
8	C ₆ -C ₂	Acetophenones	Gallicacetophenone	
8	C ₆ -C ₂	Phenylacetic acid	p-Hydroxyphenyl-acetic acid	
9	C ₆ -C ₃	Hydroxycinnamic acids	p-Coumaric acid	
9	C ₆ -C ₃	Coumarins	Baculein	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₇ -C ₆	Xanthones	Xanthone	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Bilbenes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₂ -C ₆	Flavonoids	Naringenin	

Flavonoid sendiri terbagi atas dua struktur, yaitu mayor flavonoid yang terdiri dari flavon, flavonol, flavan-3-ol, isoflavon, flavanon dan anthocyanidin. Sedangkan minor flavonoid adalah dihydroflavonols, flavan-3,4-diol, coumarin, kalkon, dihidrokalkone dan aurone. Senyawa flavonoid ini digunakan dalam proses fotosintesis, pigmentasi, pelindung dari UV, fiksasi nitrogen.



Gambar 3. Struktur mayor flavonoid (Crozier, *et al.*, 2006)



Gambar 4. Struktur minor flavonoid (Crozier, *et al.*, 2006)

Alga merah *Laurencia majuscula* menghasilkan sesquiterpene 8-bromo-1-en-chamigren, dan derivat stigmastadiendiol, sedangkan genus *Laurencia* lainnya menghasilkan: (+)-rogioloxepane, -aplisinal, (-)-isolaurallen, pannosan, pannosan, (3Z)-chlorofucin dan lainnya (Blunt *et al.*, 2003). Salah satu senyawa yang umum ditemukan pada alga merah adalah 2,4,6 tribromophenol.



Gambar 5. 2,4,6 tribromophenol (Crozier, *et.al*, 2006),

Zat aktif seperti *allelopatik* yang terkandung di dalam alga merah dapat digunakan sebagai pakan organik. Penelitian dari El-Tawil (2010), menunjukkan alga jenis *Ulva* sebagai suplemen pertumbuhan tubuh ikan tilapia merah (*Oreochromis sp.*). Selama perlakuan, terjadi peningkatan massa tubuh lebih dari 0,015.

Alga mengandung vitamin C (Anantharaman *et al.*, 2011) dan selenium yang bersifat antioksidan untuk melindungi tubuh dari zat kimia beracun. Pada masa penyembuhan dari sakit, dianjurkan mengonsumsi produk hasil olahan dari alga. Jumlah nutrisi alga mampu memberikan fungsi imun, revitalisasi tubuh, baik untuk kesehatan jantung, memperbaiki pencernaan dengan fungsi seratnya, memperbaiki sistem saraf dan menyeimbangkan hormon (Choi *et al.*, 2011, Fariyah, 1996., Rasyid, 2004).

C. Jenis Bakteri Patogen Pada Organisme Budidaya Perairan

1. Bakteri *Vibrio cholerae*



Gambar 6. Morfologi Bakteri *V. harveyi*

Klasifikasi bakteri *Vibrio cholerae*:

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

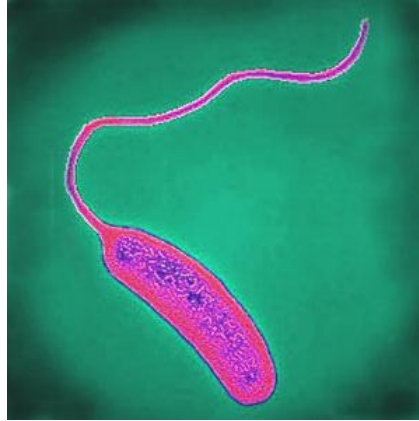
Famili : Pseudomonadaceae

Genus : Vibrio

Spesies : *Vibrio cholerae*

Bakteri jenis ini paling sering menyerang organisme budidaya perairan seperti ikan kerapu (*Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal)) (Aquaculture Department, 2001; Hatmani *et al.*, 2009; Johnny *et al.*, 2011) dan udang (*Penaeus monodon*) (Nasi *et al.*, 2011; Widananni *et al.*, 2010). *Vibriotermasuk* bakteri bersifat Gram negatif, fakultatif anaerobik, bentuk sel seperti batang dengan ukuran panjang berkisar antara 2-5 μm , menghasilkan katalase dan oksidase. *Vibriomemiliki* satu buah flagel (monotrik) serta dapat bergerak sangat

aktif (motil) (Gambar 4). Vibriosis adalah salah satu jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari famili Vibrionaceae.

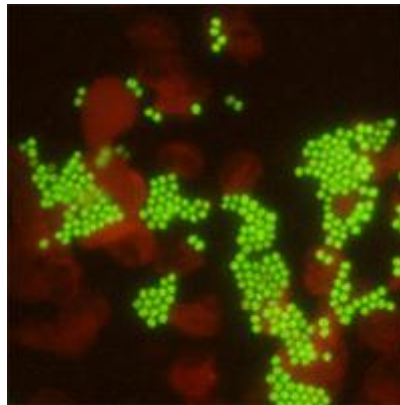


Gambar 7. Morfologi Bakteri *V. cholerae*

Hewan laut yang telah terinfeksi *Vibrio*, khususnya udang, akan mengalami kondisi tubuh lemah, lambat berenang, nafsu makan hilang, terdapat bercak merah-merah pada pleopod dan abdomen, dan pada malam hari terlihat seperti menyala. Bagian mulut yang kehitaman adalah kolonisasi bakteri pada esofagus dan mulut. Masa inkubasi bakteri ini antara 6 jam hingga 5 hari (Habil, 2011). Simptom penyakit ini dapat dilihat melalui tanda kemerahan pada kulit, terdapat pendarahan (*hemorrhage*) dan luka (*erythrema*) pada sirip dan permukaan tubuh ikan. Pada permukaan kulit terlihat benjolan yang merah. Bagian organ dalam membengkak, membuat benjolan pada otot dan pendarahan dalam hati dan usus. Kebanyakan menjadi septikemia, tiba-tiba kejang dan menggelepar sampai terjadi kematian. Infeksi bakteri ini terjadi akibat meningkatnya suhu, stres dan bahan-bahan berbahaya. Sebaliknya, kontaminasi bakteri ini pada manusia dapat terjadi lewat makanan dari hasil laut, atau akibat penanganan dan perlakuan yang keliru. Bakteri *Vibrio* dapat mengakibatkan gastroenteritis dengan gejala umum yaitu diare encer dan seringkali berdarah,

muntah, mual, demam dan kram perut, seringkali mengakibatkan kematian pada manusia dan hewan. Bakteri *V. cholerae* yang berasal dari darat atau air tawar, sudah dikenal sebagai penyebab penyakit muntah berak di Indonesia (Wulandari, 2010), *V. cholera* strain O1 juga dikenal sebagai agen penyebar penyakit diare dan disentri dengan gejala awal dehidrasi, pendarahan, sakit pada perut, ketidakseimbangan elektrolit dan kematian dalam hitungan jam (Lamps, 2009)

2. Bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 8. Morfologi *S. aureus*

Secara taksonomi, *S. aureus* berasal dari keluarga Staphylococcaceae yang merupakan bakteri berbentuk bulat (coccus) yang ditemukan oleh Rosenbach pada tahun 1884. Bila diamati di bawah mikroskop tampak berpasangan, membentuk rantai pendek, atau membentuk kelompok yang tampak seperti tandan buah anggur dengan koloni berwarna kekuningan (Gambar 4). Organisme ini Gram-positif, fakultatif anaerob dengan menggunakan asam laktik, katalase positif tetapi oksidasi negatif. Bakteri *S. aureus* dapat berkembangbiak pada suhu 15-45°C dan konsentrasi maksimal NaCl sebesar 15%.

Keracunan makanan staphylococcal (staphyloenterotoxiosis; staphyloenterotoxemia) merupakan nama kondisi yang disebabkan oleh enterotoxin yang diproduksi oleh beberapa strain *S. aureus*.

Gejala penyakit ini biasanya terjadi segera setelah infeksi, dan dalam banyak kasus bersifat akut, tergantung pada kerentanan korban terhadap racun, jumlah makanan terkontaminasi yang ditelan, dan kondisi kesehatan korban secara umum. Gejala yang paling umum adalah mual, muntah, retching (seperti muntah tetapi tidak mengeluarkan apa pun), kram perut, dan rasa lemas. Beberapa orang mungkin tidak selalu menunjukkan semua gejala penyakit ini. Dalam kasus-kasus yang lebih parah, dapat terjadi sakit kepala, kram otot, dan perubahan yang nyata pada tekanan darah serta denyut nadi. Proses penyembuhan biasanya memerlukan waktu dua hari, namun, tidak menutup kemungkinan penyembuhan secara total pada kasus-kasus yang parah memerlukan waktu tiga hari atau kadang-kadang lebih.

Dosis infektiftoxin/racun sebanyak kurang dari 1.0 mikrogram dalam makanan yang terkontaminasi dapat menimbulkan gejala keracunan staphylococcal. Tingkat racun ini dicapai apabila populasi *S. aureus* lebih dari sel 100.000 per gram.

Dalam diagnosis keracunan makanan staphylococcal, informasi melalui wawancara dengan korban, serta pengumpulan dan analisa data epidemiologi sangat penting dilakukan. Makanan yang dicurigai harus dikumpulkan dan diperiksa untuk menentukan keberadaan staphylococci. Adanya staphylococci penghasil enterotoxin dalam jumlah cukup besar sudah merupakan bukti yang kuat bahwa makanan tersebut mengandung racun. Pengujian yang paling kuat dalam pengambilan kesimpulan adalah pengujian hubungan antara penyakit

dengan makanan tertentu, atau apabila ada lebih dari satu perantara penularan, deteksi racun di dalam sampel makanan. Dalam kasus-kasus di mana makanan mungkin telah diolah untuk membunuh bakteri staphylococci, misalnya dengan pasteurisasi atau pemanasan, pengamatan secara langsung menggunakan mikroskop mungkin berguna dalam diagnosis. Sejumlah metode serologis untuk menentukan kemampuan *S. aureus*, yang diisolasi dari makanan, dalam membentuk racun yang menyerang saluran pencernaan, serta metode-metode untuk memisahkan dan mendeteksi racun di dalam makanan telah dikembangkan dan berhasil digunakan untuk membantu diagnosis penyakit tersebut. Phage typing (penentuan strain bakteri dengan menggunakan jenis bakteriofag tertentu) mungkin juga berguna apabila staphylococci yang masih hidup dapat diisolasi dari makanan yang dicurigai, dari korban, dan dari perantara yang dicurigai misalnya pengolah makanan.

Infeksi-infeksi Staph dari kulit dapat berlanjut ke impetigo (pengerasan dari kulit) atau cellulitis (peradangan dari jaringan penghubung dibawah kulit, menjurus pada pembengkakan dan kemerahan dari area itu). Pada kasus-kasus yang jarang, komplikasi yang serius yang dikenal sebagai scalded skin syndrome (lihat dibawah) dapat berkembang. Pada wanita-wanita yang menyusui, Staph dapat berakibat pada mastitis (peradangan payudara) atau bisul bernanah dari payudara. Bisul-bisul bernanah Staphylococcal dapat melepaskan bakteri-bakteri kedalam susu ibu.

Ketika bakteri-bakteri memasuki aliran darah dan menyebar ke organ-organ lain, sejumlah infeksi-infeksi serius dapat terjadi. Staphylococcal pneumonia sebagian besar mempengaruhi orang-orang dengan penyakit paru yang mendasarinya dan dapat menjurus pada pembentukan bisul bernanah

didalam paru-paru. Infeksi dari klep-klep jantung (endocarditis) dapat menjurus pada gagal jantung. Penyebaran dari Staphylococci ke tulang-tulang dapat berakibat pada peradangan yang berat/parah dari tulang-tulang dikenal sebagai osteomyelitis. Staphylococcal sepsis (infeksi yang menyebar luas dari aliran darah) adalah penyebab utama dari shock (goncangan) dan keruntuhan peredaran, menjurus pada kematian, pada orang-orang dengan luka-luka bakar yang parah pada area-area yang besar dari tubuh.

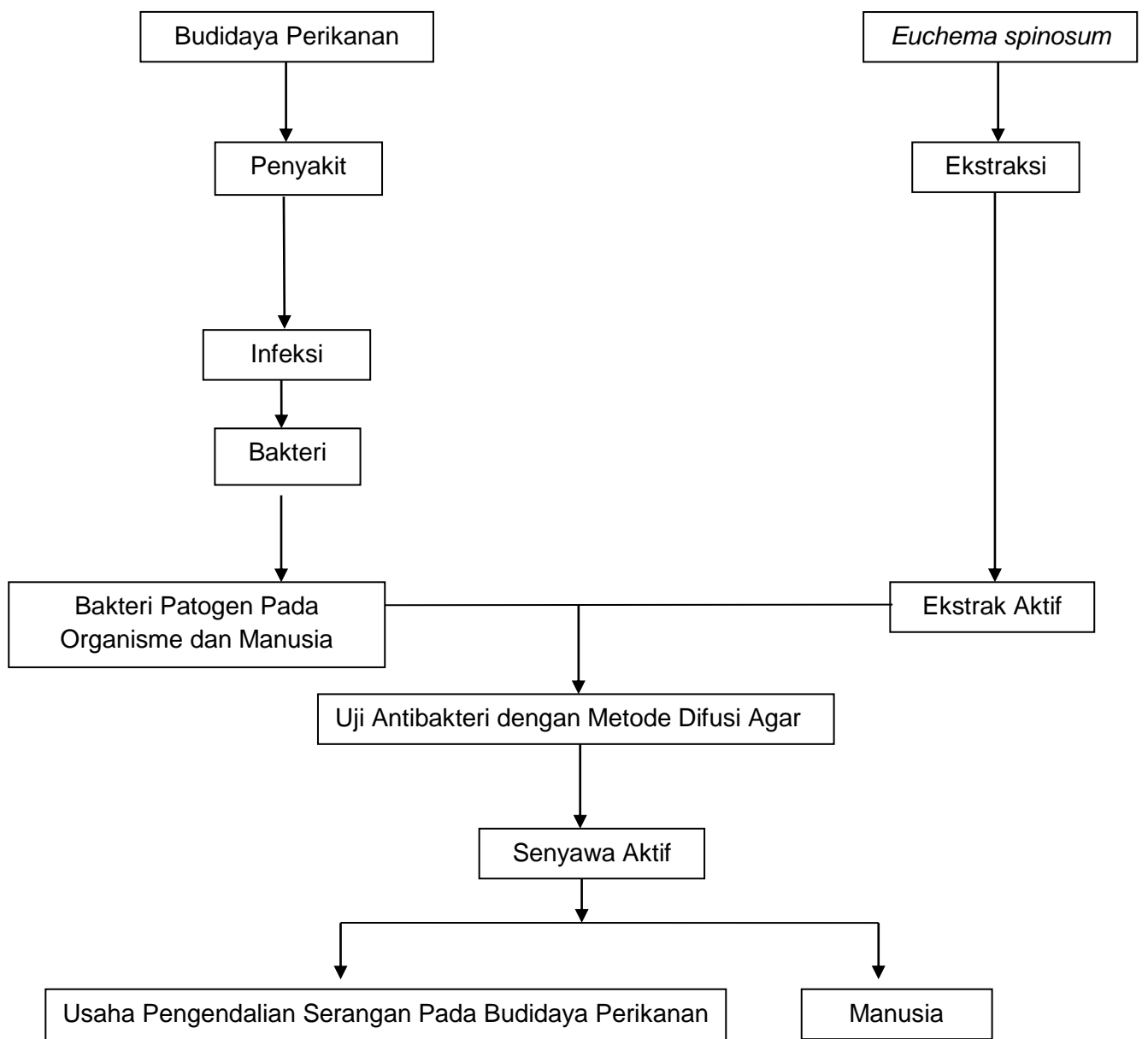
Keracunan makanan Staphylococcal adalah penyakit dari usus-usus yang menyebabkan mual, muntah, diare, dan dehidrasi. Ia disebabkan oleh memakan makanan-makanan yang dicemari dengan racun-racun yang dihasilkan oleh Staphylococcus aureus. Gejala-gejala biasanya berkembang dalam waktu satu sampai enam jam setelah memakan makanan yang tercemar. Penyakit biasanya berlangsung untuk satu sampai tiga hari dan menghilang dengan sendirinya. Pasien-pasien dengan penyakit ini adalah tidak menular, karena racun-racun tidak ditularkan dari satu orang kelainnya.

Toxic shock syndrome adalah penyakit yang disebabkan oleh racun-racun yang dikeluarkan bakteri-bakteri Staph aureus yang tumbuh dibawah kondisi-kondisi dimana ada sedikit atau tidak ada oksigen. Toxic shock syndrome dikarakteristikan oleh penimbunan tiba-tiba dari demam yang tinggi, muntah, diare, dan nyeri-nyeri otot, diikuti okeh tekanan darah rendah (hipotensi), yang dapat menjurus pada guncangan (shock) dan kematian. Mungkin ada ruam kulit yang menirukan terbakar sinar matahari, dengan terkupasnya kulit. Toxic shock syndrome pertamakali digambarkan dan masih terjadi terutama pada wanita-wanita yang bermenstruasi yang menggunakan tampons.

Staphylococci ada di udara, debu, air buangan, air, susu, dan makanan atau pada peralatan makan, permukaan-permukaan di lingkungan, manusia, dan hewan. Manusia dan hewan merupakan sumber utama infeksi. Staphylococci ada pada saluran hidung dan tenggorokan dan pada rambut dan kulit dari 50% atau lebih individu yang sehat. Tingkat keberadaan bakteri ini bahkan lebih tinggi pada mereka yang berhubungan dengan individu yang sakit dan lingkungan rumah sakit. Walaupun pengolahan makanan merupakan sumber utama kontaminasi dalam kasus-kasus keracunan makanan, peralatan dan permukaan lingkungan dapat juga menjadi sumber kontaminasi oleh *S. aureus*. Keracunan pada manusia disebabkan oleh konsumsi enterotoxin yang dihasilkan oleh beberapa strain *S. aureus* di dalam makanan, biasanya karena makanan tersebut tidak disimpan pada suhu yang cukup tinggi (60°C, atau lebih) atau cukup dingin (7.2°C, atau kurang). Semua manusia diyakini rentan terhadap keracunan karena bakteri ini; namun, intensitas gejala yang dialami dapat bervariasi.

D. Kerangka Pikir Penelitian

Alga merah *E. spinosum* dikenal sebagai bagian dari ekosistem laut, yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri yang pada organisme budidaya perairan dan manusia. Oleh karena itu, alur penelitian dapat dilihat pada kerangka penelitian sebagai berikut:



Gambar 9. Kerangka pikirpenelitian