

## KAJIAN POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

*Study of Sea Grape Extract Potential (Caulerpa racemosa) As Antibacterial Against Escherichia coli and Staphylococcus aureus Bacteria*

Isnaini Marfuah<sup>\*)</sup>, Eko Nurcahya Dewi, Laras Rianingsih

Departemen Teknologi Hasil Perikanan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698  
Email: [isnainimarfuah95@gmail.com](mailto:isnainimarfuah95@gmail.com)

Diterima : 28 September 2017

Disetujui : 12 November 2017

### ABSTRAK

*C. racemosa* merupakan salah satu jenis makroalga yang berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa bioaktif pada anggur laut *C. racemosa* seperti senyawa tannin, fenol, flavonoid, alkaloid berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung pada anggur laut dan pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak kasar anggur laut terhadap zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini yaitu model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter pengujian pada penelitian ini meliputi uji fitokimia kuantitatif yang dilakukan pada ketiga jenis ekstrak anggur laut pelarut etanol, etil asetat, dan n-hexane. Pengujian zona hambat anggur laut menggunakan metode difusi sumuran dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 5%, 10%, dan 15% dengan tiga kali ulangan. Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji ANOVA dan apabila terdapat perbedaan antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil uji fitokimia kuantitatif terbaik didapatkan pada senyawa tannin ekstrak kasar etanol anggur laut yaitu sebesar 5,65%, fenol 5,30%, flavonoid 1,70%, alkaloid 0,20%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol anggur laut merupakan ekstrak terbaik. Pengujian zona hambat antibakteri ekstrak anggur laut terhadap bakteri *E. coli* didapatkan diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 15%  $6,95 \pm 0,28$  mm dan terendah pada konsentrasi 5%  $3,53 \pm 0,28$  mm. Pada bakteri *S. aureus* didapatkan diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 15%  $9,00 \pm 0,25$  mm dan terendah pada konsentrasi 5%  $6,92 \pm 0,21$  mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak anggur laut memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Kata kunci : Anggur laut (*Caulerpa racemosa*), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan Potensi Antibakteri

### ABSTRACT

*C. racemosa* is one type of macroalgae that has potential as antibacterial. Bioactive compounds in *C. racemosa* sea grapes such as tannin compounds, phenols, flavonoids, alkaloids are potential as antibacterial compounds. The purpose of this study was the effect of different concentrations of crude extract of sea grape to the inhibition zone of *E. coli* and *S. aureus* bacteria. The design used in this research is Completely Randomized Design (CRD). Testing parameters in this study include quantitative phytochemical test conducted on three types of sea grape extract ethanol, ethyl acetate and n-hexane. The testing of sea grapes barrier zone using diffusion method of wells with different concentrations of 5%, 10%, and 15% with three replications. The drag zone diameter data were analyzed using ANOVA test and if there was any difference between the treatments, then a further test was conducted with a Real Difference (RD). The best quantitative phytochemical test results were obtained on tannin extract of crude ethanol sea grape that is 5.65%, phenol 5.30%, flavonoid 1.70%, alkaloids 0.20%. This suggests that the sea grape ethanol extract is the best extract. Examination of antibacterial inhibition zone of the sea grape extract on *E. coli* bacteria obtained the highest inhibitory zone diameter at 15% concentration  $6.95 \pm 0.28$  mm and lowest at concentration 5%  $3.53 \pm 0.28$  mm. In *S. aureus* bacteria obtained the highest inhibitory zone diameter at a concentration of 15%  $9.00 \pm 0.25$  mm and the lowest at a concentration of 5%  $6.92 \pm 0.21$  mm. The results showed that the concentration of sea grape extract gave effect to the inhibition zone diameter of *E. coli* and *S. aureus* bacteria.

Keywords: Sea grapes (*Caulerpa racemosa*), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and Antibacterial Potential

\*) Penulis Penanggung jawab

## PENDAHULUAN

*Caulerpa racemosa* atau biasa dikenal dengan anggur laut merupakan alga hijau yang banyak ditemukan pada substrat pasir dan karang. Anggur laut ini biasa dikonsumsi sebagai sayuran atau lalapan oleh masyarakat di daerah tropis. Daerah penyebarannya antara lain perairan Sumatera, Jawa dan Sulawesi Utara. Anggur laut ini memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Perlu adanya cara untuk memanfaatkan anggur laut *C. racemosa* agar lebih optimal, salah satu caranya yaitu sebagai antibakteri. Izzati (2007), bahwa beberapa jenis rumput laut seperti *Sargassum* sp., *Caulerpa* sp., *Padina* sp. dan *Gelidium* sp. mengandung senyawa antibakteri fenol, flavonoid, alkaloid.

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, memusnahkan mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme. Hal ini sesuai dengan pendapat Singkoh (2011), bahwa ekstrak *C. racemosa* mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti bakteri *Bacillus subtilis*. Senyawa antibakteri ini harus efektif dalam pengendalian pertumbuhan bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia.

*S. aureus* dan *E. coli* adalah bakteri yang biasa digunakan sebagai bakteri target dalam penelitian antibakteri. Kedua bakteri tersebut termasuk bakteri patogen yang menyebabkan kontaminasi pada produk pangan hasil perikanan, oleh karena itu perlu adanya ekstrak bahan alami yang dapat digunakan sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen tersebut.

Berdasarkan permasalahan diatas, adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung pada anggur laut dan mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

## MATERI DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan anggur laut (*C. racemosa*) yang diperoleh dari Perairan Karimunjawa. Jepara. Tiga jenis pelarut yang digunakan adalah n-heksan, etil asetat dan etanol. Bahan lain yang digunakan adalah NB, tepung agar, dan Kertas Whatman no.41, asam klorida pekat, pereaksi dragendorf, pereaksi meyer, alkohol 70%, kloroform, anhidrat asetat, *Quercetin*, *follin denis*, plastik wrap, amoxicillin dan aluminium foil.

Alat yang digunakan yaitu *autoclave*, petridisk, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, *erlenmeyer*, labu *round bottom flask*, *magnetic*

*stirrer*, mikropipet, *rotary evaporator*, tabung reaksi, timbangan analitik, *vial*, jarum ose, *hotplate*, *freezer*, *laminary air flow*, dan inkubator.

### Metode Penelitian Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan terdiri dari preparasi sampel, ekstraksi sampel dan uji skrining fitokimia.

### Preparasi Sampel

Penanganan dilakukan dengan mendapatkan sampel anggur laut di perairan Karimun Jawa. Sampel diambil dan dimasukkan dalam *coolbox* yang telah diberi es secukupnya. Hal ini dilakukan supaya sampel tidak terkena sinar matahari dan tetap terjaga kesegarannya selama perjalanan. *C. racemosa* dicuci dengan air tawar yang mengalir dan dibersihkan supaya kotoran-kotoran yang menempel hilang. *C. racemosa* yang telah dicuci kemudian ditiriskan dan ditata untuk dikeringkan pada suhu ruang.

### Ekstraksi Sampel (Singkoh, et al., 2011)

Sampel yang sudah kering dipotong-potong menyerupai serbuk kasar. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan pelarut. Proses maserasi dilakukan dengan merendam sampel yang ditambahkan pelarut masing-masing dalam 3 jenis pelarut (n-hexan, etil asetat dan etanol) dengan perbandingan 1:5 (v/w) atau hingga sampel terendam sempurna, ditutup rapat dan disimpan di tempat gelap yang terhindar dari cahaya, hal ini dilakukan untuk menghindari kerusakan senyawa pada sampel. Maserasi dilakukan selama 2x24 jam dan setiap satu hari sekali dilakukan pengadukan untuk menyeimbangkan pelarut dan bahan ekstraktif. Filtrat disaring dengan menggunakan kertas Whatman. Hasil filtrat diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu dibawah 60°C. Selanjutnya dilakukan perhitungan rendemen ekstrak sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100 \%$$

### Skrining Fitokimia (Suryanto, 2007) Flavonoid

Sampel ekstrak anggur laut *C. racemosa* ditimbang sebanyak 5 gram dan dilarutkan dalam 100 ml aquades. Larutan dihomogenkan, lalu di *centrifuge* dan disaring. Sebanyak 1 ml larutan jernih ditambahkan 3 ml larutan  $\text{AlCl}_3$  5% dan *aquadest* hingga volume mencapai 10 ml. Pembacaan absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 420 nm. Hasil yang diperoleh dihitung dengan menggunakan kurva standar yang dibuat dengan menggunakan *Quercetin*.

### Tanin (Harboune, 1987)

Sampel ekstrak anggur laut *C. racemosa* ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades. Larutan digojog hingga homogen, lalu *dicentrifuge* dan disaring untuk memisahkan endapan dan filtrat. Filtrat diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan 0,5 ml *Follin Denis* (*Follin* 1:1) dan 1 ml larutan  $\text{NaCO}_3$  jenuh. Larutan selanjutnya ditambahkan *aquadest* hingga volume 10 ml dan *divortex*. Pembacaan absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 730 nm. Hasil yang diperoleh dihitung dengan menggunakan kurva standar yang dibuat dengan menggunakan *Tanin acid* murni.

### Fenol (Harboune, 1987)

Sampel ekstrak anggur laut *C. racemosa* ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades. Larutan dihomogenkan lalu di *centrifuge* dan disaring. Filtrat diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan 0,5 ml *Follin Denis* (*Follin* 1:1) dan 1 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh, kemudian didiamkan selama 10 menit. Larutan selanjutnya ditambahkan *aquadest* hingga volume 10 ml dan *divortex*. Pembacaan absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 730 nm. Data yang diperoleh kemudian dihitung dengan kurva standar phenol.

### Alkaloid (Harboune, 1987)

Sebanyak 2 g sampel yang telah dihaluskan ditambahkan kloroform secukupnya lalu dihaluskan lagi. Kemudian ditambah 10 ml amoniak dan 10 ml kloroform. Larutan disaring ke dalam tabung reaksi, dan filtrat ditambahkan asam sulfat 2N sebanyak 10 tetes. Filtrat dikocok sampai homogen kemudian dibiarkan beberapa lama sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing 2,5 ml. Ketiga larutan ini dianalisis dengan pereaksi *Dragendorff*. Terbentuknya endapan jingga dengan pereaksi *Dragendorff* menunjukkan bahwa positif mengandung alkaloid.

### Penelitian Utama

Penelitian utama meliputi uji zona hambat antibakteri ekstrak kasar *C. racemosa* dari pelarut terbaik dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda (5%, 10%, dan 15%), uji kontrol negatif, uji kontrol positif.

### Pembuatan media

Ada 3 macam media yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri ini yaitu *hard agar* sebagai lapisan dasar, *soft agar* sebagai media pertumbuhan bakteri, dan *nutrient broth* sebagai media cair pertumbuhan bakteri. *Hard agar* dibuat dengan melarutkan 0,8 gram *nutrient broth* (NB) dan 2 gram agar dalam 100 mL *aquadest*.

Sedangkan *soft agar* dengan cara melarutkan 0,8 gram NB dan 0,76 gram agar dalam 100 mL *aquades*. Media suspensi bakteri dibuat dengan melarutkan 0,8 gram NB dalam 100 mL *aquades*. Setelah itu, semua media ini dihomogenkan dan disterilisasi di dalam autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit (Ngajow *et al.*, 2013).

### Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan yaitu *S.aureus* FNCC 0047 dan *E.coli* FNCC 0091 yang didapatkan dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada dalam bentuk isolat miring. Bakteri uji diambil pada isolat miring menggunakan jarum ose yang sebelumnya dibakar menggunakan api bunsen dan didinginkan agar steril sebanyak 1 ose lalu disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan *nutrient broth* (NB) dan *divortex* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Pembuatan media pengujian

Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan *hard agar* masing-masing 10 ml ke dalam cawan petri, setelah itu dibiarkan memadat, maka permukaan lapisan dasar dibuat sumuran dengan menanamkan 3 sumuran yang jaraknya tidak terlalu dekat. Sumuran dibuat dari *bluetip* yang diletakkan di atas *hard agar* yang telah menjendal. *Bluetip* yang diletakkan sebagai sumuran, diletakkan secara hati-hati dan rapi dengan menggunakan pinset. Selanjutnya suspensi bakteri diambil sebanyak 50µL dan ditambahkan dengan *soft agar* kemudian diratakan dan tunggu hingga *soft agar* menjendal. Ketika *soft agar* menjendal, angkat kembali *bluetip* dengan menggunakan pinset sehingga terbentuk lubang lubang menyerupai sumur. Cawan petri yang telah diisi media diletakkan di *laminar air flow* agar memastikan tidak terjadi pengembunan.

### Pembuatan larutan ekstrak

Konsentrasi ekstrak yang akan digunakan untuk pengujian antibakteri ada tiga antara lain; 5%, 10%, dan 15%. Pembuatan konsentrasi 5% yaitu dengan cara 5% dikalikan dengan 1 ml (jumlah larutan yang diinginkan) kemudian ekstrak dimasukkan pada mikrotube sebagai wadah, lalu ditambahkan *aquadest* 0,95 ml dan *divortex*. Cara pembuatan konsentrasi 10 % dan 15 % juga sama dengan pembuatan konsentrasi 5 % hanya saja berat ekstrak yang dimasukkan yang berbeda.

### Pengujian aktivitas antibakteri (Ngajow *et al.*, 2013)

Pengujian dilakukan dengan cara mengukur diameter daerah hambatan (zona hambat) bakteri uji yaitu *S. aureus* dan *E. coli*. Langkah yang pertama yaitu meneteskan ekstrak anggur laut *C. racemosa* dengan berbagai konsentrasi yaitu 5%, 10%, dan 15% dengan menggunakan mikropipet 50 µL. Metode uji antibakteri dilakukan dengan

menggunakan teknik Sumuran (Difusi Agar). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol anggur laut *C. racemosa* yang dilakukan dengan cara mengukur diameter daerah hambatan pertumbuhan (zona bening) bakteri uji yaitu bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Metode sumuran ini dipilih karena metode pengerjaannya yang cukup sederhana juga karena hasil zona hambat yang diperoleh lebih besar dengan metode difusi agar lainnya yaitu difusi agar cakram dan difusi agar silinder. Hal ini dikarenakan pada metode sumuran ekstrak sampel tidak hanya beraktivitas di permukaan media tapi juga sampai ke bawah sehingga daya kerja dari ekstrak sampel akan lebih efektif. Cara menentukan aktivitas antibakteri adalah sebagai berikut: sumuran yang sudah dibuat pada media pengujian ditetesi masing-masing dengan larutan uji yaitu ekstrak anggur laut *C. racemosa* yang dilarutkan dalam aquadest steril dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 5%, 10%, dan 15% masing-masing sebanyak 50 µl menggunakan mikropipet kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 48 jam. Setelah 48 jam dilihat ada tidaknya zona hambat yang terbentuk. Jika ada, diukur diameter daerah hambatan di sekitar lubang sumuran pada masing-masing konsentrasi menggunakan jangka sorong. Hasil yang didapat kemudian dikurangi dengan diameter sumuran yang digunakan.

#### Uji kontrol negatif

Uji kontrol negatif dilakukan dengan menggunakan pelarut yang digunakan untuk proses pembuatan konsentrasi ekstrak yaitu aquadest. Proses pengujiannya yaitu: sumuran yang sudah dibuat pada media pengujian ditambahkan dengan pelarut yaitu aquadest steril sebanyak 50 µL. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Idealnya pelarut tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Jika terbentuk zona hambatan pada uji kontrol negatif maka hasil diameter zona hambat pada uji aktivitas antibakteri harus dikurangi dengan besarnya zona hambatan pada uji kontrol negatif (Bachtiar *et al.*, 2012).

#### Uji kontrol positif

Uji kontrol positif dilakukan untuk mengetahui pengaruh antibiotik komersial terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Pada penelitian ini digunakan antibiotik amoxicillin sebagai uji kontrol positif. Proses pengujiannya yaitu sumuran yang sudah dibuat pada media pengujian ditambahkan dengan masing-masing larutan amoxicillin dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15% yang telah disiapkan. Pembuatan konsentrasi larutan ini sama dengan pembuatan konsentrasi ekstrak *C. racemosa* yaitu untuk konsentrasi 5% dibuat dengan cara 5% dikalikan

dengan 1 ml yang merupakan jumlah larutan yang diinginkan, lalu ditambahkan aquadest 0,95 ml.

#### Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan 3 jenis konsentrasi yang berbeda. Variabel utama pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 5%, 10% dan 15% pada waktu inkubasi 2x24. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data pendukungnya adalah uji skrining fitokimia, uji kontrol negatif, dan kontrol positif.

#### Analisa Data

Analisa data dilakukan normalitas dan homogenitas data kemudian dilakukan analisis dengan menggunakan ANOVA. Jika nilai F hitung  $\geq$  F tabel maka terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan dan  $H_1$  diterima. Sebaliknya jika nilai F hitung  $<$  F tabel maka tidak terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan dan hipotesis alternatif ( $H_1$ ) ditolak. Apabila terdapat perbedaan yang nyata, dilakukan uji lanjut untuk melihat perbedaan antar tiap perlakuan berdasarkan nilai koefisien keragaman yang diperoleh. Uji lanjut yang digunakan adalah Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf uji 5%.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi sampel *C. racemosa* dilakukan dengan melakukan proses pengeringan terlebih dahulu dengan cara diangin-anginkan selama 4 hari. Setelah proses pengeringan ini, maka didapatkan hasil rendemen sampel sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Penyusutan bobot sampe} \\ &= \frac{\text{Berat basah}-\text{berat kering}}{\text{Berat sampel basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{17900 \text{ g}}{20000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 89,5 \% \end{aligned}$$

Metode ekstraksi yang dipilih karena metode ini memiliki beberapa keuntungan, yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana. Metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga senyawa seperti flavonoid yang sangat rentan terhadap suhu tinggi tidak mengalami kerusakan. Menurut Pramana dan Chairul (2013), proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, metode ini sangat tepat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas.

Hasil ekstraksi dan rendemen sampel setelah dilakukan *rotary evaporator* tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi dan Rendemen Sampel Setelah *Rotary Evaporator*

Berat sampel (g)	Volume Larutan (L)	Jenis Pelarut	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)	Warna
600	3000	Etanol	13,09	2,18	Hijau tua
600	3000	Etil asetat	8,87	1,47	Hijau tua
600	3000	N-hexane	3,55	0,59	Hijau tua

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada ekstrak pelarut etanol menghasilkan ekstrak paling besar sebesar 13,09 g, pada pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak sebesar 8,87 g, sedangkan pada ekstrak n-hexane menghasilkan ekstrak paling kecil sebesar 3,55 g. Rendemen terbesar dihasilkan oleh pelarut etanol sebesar 2,18 %, kemudian menurun pada pelarut etil asetat sebesar 1,47 %, dan menurun kembali pada pelarut n-hexane yang menghasilkan rendemen sebesar 0,59 %. Hal ini terkait dengan kemampuan pelarut dalam menarik senyawa-senyawa pada sampel selama ekstraksi. Utami (2014), menyatakan bahwa ketika bahan padat (sampel) kontak dengan pelarut, maka komponen yang larut dalam bahan padat pindah ke pelarut. Hal tersebut menyebabkan perpindahan masa komponen aktif pada bahan padat ke pelarut.

Menurut Rezki *et al.* (2015), Semakin lama waktu ekstraksi, maka persentase hasil yang diperoleh semakin besar. Hal ini disebabkan karena waktu kontak antara simplisia dengan pelarutnya semakin lama.

#### Uji Skrinning Fitokimia

Uji skrinning fitokimia digunakan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak *C. racemosa*. Pengujian ini dilakukan terhadap ketiga ekstrak etanol, etil asetat dan n-hexane yang diduga berpotensi sebagai antibakteri. Metode yang digunakan merupakan pengujian secara kuantitatif. Hasil dari pengujian fitokimia kuantitatif pada ekstrak *C. racemosa* dengan pelarut etanol, etil asetat, dan n-hexane terlihat pada Tabel 2.

Hasil uji fenol, tanin, flavonoid, dan alkaloid pada anggur laut *C. racemosa* positif mengandung senyawa fenol, tanin, flavonoid dan alkaloid. Hasil kadar kandungan fenol, tanin, flavonoid dan alkaloid pada penelitian tahap I didapatkan hasil tertinggi pada pelarut etanol dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan n-hexane. Besarnya kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak pelarut etanol adalah 5,31±0,01% (fenol), 5,65±0,01% (tanin), 1,70±0,02% (flavonoid), 0,21±0,01%

(alkaloid). Pelarut terbaik yang menghasilkan fenol, tanin, flavonoid, dan alkaloid adalah pada ekstrak pelarut etanol, sehingga pada penelitian tahap II digunakan pelarut etanol untuk mengekstraksi sampel. Menurut Tiwari *et al.* (2011), berpendapat bahwa pelarut etanol lebih banyak menarik senyawa seperti flavonoid, fenol, dan alkaloid, sedangkan saponin lebih banyak terlarut dalam air.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, senyawa tanin merupakan senyawa bioaktif yang memiliki kandungan tertinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya. Kemampuan tanin sebagai antibakteri dapat dilihat dari aksinya pada membran. Tanin dapat melewati membran sel karena tanin dapat berpresipitasi pada protein. Hal ini diperkuat oleh Hariana (2007), yang berpendapat bahwa dari sifat antibakteri senyawa tanin, maka tanin dapat digunakan sebagai obat antiradang, antidiare, pengobatan infeksi pada kulit dan mulut, serta pengobatan pada luka bakar. Oleh karena itu, tanin sebagai antibakteri dapat digunakan dalam bidang pengobatan.

Fenol merupakan senyawa bioaktif yang memiliki kandungan yang tinggi setelah senyawa tanin di dalam ekstrak anggur laut *C. racemosa*. Senyawa ini bersifat polar dan berperan sebagai antibakteri. Mekanisme kerja senyawa fenol dalam membunuh sel bakteri, yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri. Akibat terdenaturasinya protein sel bakteri, maka semua aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti sebab semua aktivitas metabolisme sel bakteri dikatalisis oleh enzim yang merupakan protein. Purwantiningsih *et al.* (2014), bahwa dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri.

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Senyawa bioaktif ini juga terkandung di dalam anggur laut *C. racemosa*.

Tabel 2. Hasil Pengujian Fitokimia Kuantitatif dari Anggur Laut *C. racemosa* dengan Pelarut etanol, etil asetat dan n-hexane

Senyawa antibakteri	Pelarut		
	Etanol	Etil asetat	N-hexane
Tanin	5,65±0,01%	2,58±0,02%	1,14±0,01%
Fenol	5,31±0,01%	2,35±0,02%	1,01±0,01%
Flavonoid	1,70±0,02%	0,25±0,02%	0,07±0,01%
Alkaloid	0,21±0,01%	0,09±0,00%	0,07±0,00%

Senyawa bioaktif ini diduga berpotensi sebagai senyawa antibakteri. Aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Menurut pendapat Pendit *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi.

Senyawa bioaktif selanjutnya yaitu alkaloid yang juga berperan sebagai senyawa antibakteri sama seperti senyawa bioaktif fenol, flavonoid, serta tanin. Mekanisme senyawa ini dalam antibakteri yaitu dengan merusak metabolisme sel sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Menurut Haryati *et al.* (2015), alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri, mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

### Penelitian Utama Uji Kontrol Negatif

Uji kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pelarut yang digunakan untuk pembuatan konsentrasi antibakteri. Berdasarkan uji kontrol negatif, diketahui bahwa pelarut yang digunakan untuk pembuatan konsentrasi antibakteri yaitu *aquadest*, tidak terdapat zona hambat. Tidak adanya zona hambat pada kontrol negatif ini digunakan sebagai indikator pertumbuhan bakteri uji secara normal pada berbagai perlakuan. Hal ini dapat dipastikan bahwa hasil zona hambat yang terbentuk pada pengujian aktivitas antibakteri adalah pengaruh dari ekstrak anggur laut *C. racemosa* dan tidak ada pengaruh dari pelarut yang digunakan. Hal ini diperkuat oleh Rastina *et al.* (2015), yang berpendapat bahwa kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang nyata dengan berbagai konsentrasi ekstrak. Kontrol negatif menunjukkan tidak adanya zona hambat. Hal ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antibakteri.

### Uji Kontrol Positif

Uji kontrol positif bertujuan untuk membandingkan antara diameter zona hambat yang terbentuk dari ekstrak anggur laut *C. racemosa* (antibakteri alami) dan amoxicillin (antibakteri sintesis). Hasil uji kontrol positif Amoxicillin terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Kontrol Positif Amoxicillin Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Konsentrasi (%)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
5	23,68±0,63 <sup>a</sup>	22,53±0,32 <sup>a</sup>
10	25,30±0,44 <sup>b</sup>	23,40±0,36 <sup>b</sup>
15	27,11±0,15 <sup>c</sup>	24,68±0,30 <sup>c</sup>

Keterangan :

- Data ± standar deviasi
- Data dikurangi dengan diameter sumuran (9 mm)
- Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Amoxicillin dipilih sebagai antibakteri sintesis pada uji kontrol positif karena memiliki kemampuan yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dikarenakan Amoxicillin sudah melewati tahapan proses uji dan senyawa aktif pada obat tersebut secara spesifik, sehingga didapatkan efektifitas optimal.

Hasil uji Amoxicillin terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat diketahui bahwa Amoxicillin sebagai antibiotik sintesis mampu membentuk diameter zona hambat pada semua bakteri uji. Menurut Ratnawati (2008), menyatakan bahwa Amoxicillin memiliki efek bakterisidal baik pada bakteri gram positif ataupun bakteri gram negatif. Perbedaan cara kerja dari Amoxicillin dan ekstrak kasar *C. racemosa* adalah Amoxicillin bekerja cara menghambat sintesis dinding sel bakteri uji, sedangkan ekstrak kasar *C. racemosa* bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh.

### Penelitian Utama Uji Zona Hambat Bakteri

Pengujian zona hambat dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran yang bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak anggur laut *C. racemosa* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil pengukuran diameter zona hambat dengan metode sumuran pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *E. coli* tersaji pada Tabel 4 dan bakteri *S. aureus* tersaji pada Tabel 5.

Tabel 4. Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Anggur Laut *C. racemosa* Terhadap Bakteri *E. coli*

Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat (mm)
5	3,53±0,28 <sup>a</sup>
10	5,78±0,33 <sup>b</sup>
15	6,95±0,28 <sup>c</sup>

Keterangan :

- Data ± standar deviasi
- Data dikurangi dengan diameter sumuran (9 mm)
- Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa hasil yang didapat pada bakteri *E. coli* memiliki zona hambat terbesar pada konsentrasi antibakteri 15%. Sebelum dilakukan analisis sidik ragam terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan bahwa besar zona hambat terhadap bakteri *E. coli* bersifat menyebar normal. Hal ini dapat dilihat dari nilai Asymp. Sig (0,903) > 0.05 pada taraf uji 0.05 (Lampiran 1). Hasil uji homogenitas zona hambat terhadap *E. coli* dengan menunjukkan nilai Sig. (0,883) > 0.05 pada Levene's Test (Lampiran 1). Hal ini dapat dikatakan bahwa ragam dari data diameter zona hambat yang diperoleh bersifat normal dan homogen. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, selanjutnya data nilai zona hambat dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Hasil uji ANOVA pada perlakuan konsentrasi bakteri *E. coli* menunjukkan nilai Sig (0,00) < 0,05 maka perlakuan konsentrasi ekstrak anggur laut memberikan pengaruh nyata terhadap nilai diameter zona hambat bakteri *E. coli*. Hasil uji Beda Nyata Jujur (BNJ) (P<0,05) aktivitas antibakteri anggur laut menunjukkan bahwa semua perlakuan terhadap bakteri *E. coli* berbeda nyata.

Berdasarkan hasil yang didapat bakteri *E. coli* memiliki zona hambat terbesar pada konsentrasi ekstrak *C. racemosa* 15%. Konsentrasi 15% lebih optimum karena pada konsentrasi tersebut kadar senyawa antibakteri yang berpotensi sebagai antibakteri sudah cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *C. racemosa* pada bakteri *E. coli* maka zona hambat yang dihasilkan semakin besar pada kisaran konsentrasi 15%. Asmardi *et al.* (2014), semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat. Hal ini dapat dikatakan bahwa diameter zona hambat berbanding lurus dengan tingkat konsentrasinya.

### ***Staphylococcus aureus***

*S. aureus* salah satu jenis bakteri yang sering dijumpai dalam manusia ataupun pada bahan pangan. *S. aureus* adalah salah satu jenis bakteri gram positif. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *S. aureus* tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Anggur Laut *C. racemosa* Terhadap Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Zona Hambat (mm)
5	6,92±0,21 <sup>a</sup>
10	8,22±0,20 <sup>b</sup>
15	9,00±0,25 <sup>c</sup>

Keterangan :

- Data ± standar deviasi
- Data dikurangi dengan diameter sumuran (9 mm)
- Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Berdasarkan Tabel 13 diketahui bahwa hasil yang didapat pada bakteri *S. aureus* memiliki zona hambat terbesar pada konsentrasi ekstrak 15%. Sebelum dilakukan analisis sidik ragam terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan bahwa besar zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* bersifat menyebar normal. Hal ini dapat dilihat dari nilai Asymp. Sig (0,967) > 0.05 pada taraf uji 0.05 (Lampiran 2). Hasil uji homogenitas zona hambat terhadap *S. aureus* dengan menunjukkan nilai Sig. (0,971) > 0.05 pada Levene's Test (Lampiran 2). Hal ini dapat dikatakan bahwa ragam dari data diameter zona hambat yang diperoleh bersifat normal dan homogen. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, selanjutnya data nilai zona hambat dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Hasil uji ANOVA pada perlakuan konsentrasi bakteri *S. aureus* menunjukkan nilai Sig (0,00) < 0,05 maka perlakuan konsentrasi ekstrak anggur laut memberikan pengaruh nyata terhadap nilai diameter zona hambat bakteri *S. aureus*. Hasil uji Beda Nyata Jujur (BNJ) (P<0,05) aktivitas antibakteri anggur laut menunjukkan bahwa semua perlakuan terhadap bakteri *S. aureus* berbeda nyata.

Mekanisme kerja senyawa antibakteri dibagi menjadi dua, yaitu bakteriostatik dan bakteriosidal. Apabila senyawa antibakteri bersifat menghambat pertumbuhan bakteri maka termasuk golongan bakteriostatik, sedangkan jika bersifat membunuh bakteri termasuk golongan bakteriosidal. Berdasarkan zona hambat yang terbentuk, ekstrak anggur laut *C. racemosa* bersifat sebagai bakteriostatik karena hanya memiliki kekuatan daya hambat sedang terhadap bakteri uji. Menurut Nikham dan Taty (2012), mekanisme kerja antimikroba adalah menghambat biosintesis dinding sel, meningkatkan permeabilitas membran sel, dan mengganggu sintesis protein sel, sehingga menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian sel bakteri. Umumnya, antimikroba yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran sel bekerja sebagai bakteriosidal, sedangkan yang mempengaruhi sintesis protein bekerja sebagai bakteriostatik.

Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat). Komponen penyusun peptidoglikan antara lain adalah asam amino dan gula. Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transport ion positif untuk keluar atau masuk. Sifat larut air inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Senyawa flavonoid dan tanin merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang non polar. Hal ini menyebabkan aktivitas

penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar dari pada bakteri gram negatif (Salni dan Ratna, 2011).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Jenis pelarut terbaik untuk digunakan dalam mengekstrak senyawa bioaktif yang terkandung dalam anggur laut (*C. racemosa*) adalah pelarut etanol. Pelarut etanol merupakan pelarut polar yang dapat mengekstrak senyawa-senyawa bioaktif antara lain fenol  $5,30 \pm 0,01\%$ , tanin  $5,65 \pm 0,01\%$ , flavonoid  $1,70 \pm 0,02\%$ , alkaloid  $0,20 \pm 0,01\%$ .
2. Berdasarkan data yang diperoleh diketahui bahwa konsentrasi ekstrak anggur laut *C. racemosa* memberikan pengaruh nyata terhadap nilai diameter zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *C. racemosa* dapat digunakan sebagai antibakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asmardi, A., Rodesia M. R., dan Fitmawati. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Cyclea barbata* (L.) Miens. Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal FMIPA*, 1(2) : 1-9.
- Bachtiar, S.Y., Wahju T., dan Nanik S. 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum* sp.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(1) : 53-60.
- Harborne, J. B. 1987. Metode fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB, Bandung.(diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro).
- Hariana, A. 2007. Tumbuhan Obat & Khasiatnya. Cetakan ketiga. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Haryati, Nur Aini, Chairul S., dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 13(1).
- Izzati, Munifatul. 2007. Skeening Potensi Antibakteri Pada Beberapa Spesies Rumput Laut Terhadap Bakteri Patogen Pada Udang Windu. *Jurnal Bioma*. 9(2): 62-67.
- Ngajow, M., Jemmy, A., dan Vanda, S.K. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 2(2):128-132.
- Nikhham dan Taty E.B. 2012. Uji Baku Antibakteri dari Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* (SCHEFF) Boerl.) Hasil Iradasi Gamma dan Antibiotik Terhadap Bakteri Patogen. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Bahan*. Serpong, pp. 168-174.
- Pendit, P. A. C. D., Elok Z., dan Feronika H. S. 2016. Karakteristik Fisik-Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1) : 400-409.
- Pramana, M., Riza A., dan Chairul S. 2013. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Pada Fraksi N-heksana Dari Daun Kukang (*Lepisanthes amoena* (HASSK.) LEENH.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 10(2).
- Purwantiningsih, T. I., Yustina Y. S., dan Widodo. 2014. Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*, 38(1).
- Rastina, Mirnawati, Sudarwanto, dan Ietje W. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran*, 9(2).
- Ratnawati, S. E. 2008. Kajian Potensi Senyawa Bioaktif Teripang Darah (*Bohadschia argus*, Jaeger) Sebagai Antibakteri Patogen. Universitas Diponegoro. Semarang. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.
- Rezki, R. S., Dwimas A, dan Siswarni M. Z. 2015. Ekstrak Multi Tahap Kurkumin Dari Kunyit (*Curcuma domestica* Valet) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*.
- Salni, H.M., dan Ratna, W.M. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum* Benth ) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *Jurnal Penelitian Sains*. 14 (1 D ) 14109.
- Singkoh, Marina Flora Oktavine. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut *Caulerpa racemosa* Dari Perairan Pulau Nain. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. Vol. 7(3).
- Suryanto, E. 2007. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Flavonoid dari Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L). *Jurnal MIPA Unsrat* . 2(1): 50-55.
- Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gaurpreet dan Kaur Harleem. 2011. Phytochemical Screening and Extraction. A Review. *Internasional Pharmaceutica Scientia*. 1(1) : 187-191.
- Utami, F. P. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Anggur Laut *Caulerpa racemosa* Terhadap Bakteri Penyebab Demam Tifoid dan Gastroenteritis. [Skripsi]. Departemen Teknologi Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Bogor.