

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI DEKOKTA DAN EKSTRAK KLOOROFORM ALGA
Cladophora sp. PADA BAKTERI GRAM POSITIF DAN NEGATIF**

Ilham Santoso *, Yoni Rina B**, Zainul Fadli**

*Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

** Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email: ilhamsantoso43@yahoo.co.id

ABSTRACT

Introduction: Infectious diseases can be caused by bacteria, both Gram positive and negative bacteria. Algae are known to have antibacterial properties, one of which is *Cladophora sp.* *Cladophora sp.* is a green algae that is known to have broad-spectrum antibacterial activity. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of decoction and extract chloroform of algae *Cladophora sp.* against Gram positive and negative bacteria.

Methods: laboratory-based experimental studies in vitro with wells and macrodilution methods. Zone of Inhibition (ZOI) test is carried out by hole or well method. The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) was tested by the macrodilution method using a test tube and assessed by looking at turbidity and sediment on the bottom of the tube. The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is carried out on petri dishes that have been given nutrients so that they can see growth from bacteria.

Results: The mean value of ZOI at 100% concentration shows the greatest value compared to other concentrations. In *S.aureus* bacteria, the decoction ZOI mean value (16.67 ± 1.53) was greater than chloroform extract (10.67 ± 0.58). Whereas in *E. coli* bacteria the average value of chloroform extract (10.00 ± 1.00) was greater than the value of decoction (8.33 ± 1.53). In the MIC test the *S.aureus* bacteria reached a concentration of 50% in the decoction and chloroform extract of *Cladophora sp.* and *E. coli* bacteria only at a concentration of 100% for decoction and chloroform extract *Cladophora sp.* In the test MBC decoction and chloroform extract did not have bactericidal ability.

Conclusion: Decoction and chloroform extract *Cladophora sp.* has stronger antibacterial activity against *S.aureus*. Decoction and chloroform extract *Cladophora sp.* has the ability to inhibit bacterial growth (bacteriostatic).

Keywords: *Cladophora sp.*, Decoction, Chloroform, ZOI, MIC, MBC, *S.aureus*, *E.coli*.

PENDAHULUAN

Permasalahan kesehatan yang sering terjadi diberbagai dunia, terutama dinegara berkembang salah satunya Indonesia yaitu penyakit infeksi. Antibiotik merupakan zat-zat kimia yang dapat menghambat dan membunuh bakteri serta digunakan masyarakat untuk menangani penyakit infeksi. Namun, saat ini masyarakat menggunakan antioitk secara tidak tepat dan hal tersebut menyebabkan terjadinya resistensi bakteri terhadap bakteri¹. Resistensi bakteri terhadap antibiotik telah banyak dilaporkan, bakteri Gram positif (*S.aureus*) diketahui resisten terhadap penisilin, oksasilin dan antibiotik beta laktam lainnya. Di Asia, *S.aureus* yang resisten terhadap siprofloksasin mencapai 37%. Sedangkan bakteri Gram negatif (*E.coli*) ditemukan resisten terhadap antibiotik beta laktam².

Alga *Cladophora sp* merupakan alga hijau yang berpotensi sebagai antibiotik dikarenakan memiliki kandungan metabolit sekunder seperti steroid, polifenol, terpenoid dan tanin³. Dalam penelitian sebelumnya tentang ekstrak kasar alga hijau (*Halimeda gracilis*) menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*⁴. Ekstrak etanol 70 % *Cladophora sp.* yang diambil dari pinggiran pantai Caspia Iran memiliki aktivitas sebagai antibakteri spektrum luas⁵.

Alga hijau dapat diperhitungkan sebagai sumber senyawa bioaktif karena kemampuannya untuk memproduksi metabolit sekunder yang sangat bervariasi dengan aktivitas biologi yang sangat luas⁶. Senyawa aktif yang terdapat dalam alga dapat dipengaruhi oleh kepolaran pelarut. Pada pelarut non polar (kloroform) diketahui bahwa ekstrak kloroform alga coklat *S. vulgare* menunjukkan aktivitas antibakteri karena memiliki senyawa aktif terutama pada steroid⁷. Sedangkan pada pelarut polar (air), senyawa yang bersifat polar akan terlarut pada aquades dan senyawa yang kurang polar akan terlarut pada etanol⁸. Flavonoid merupakan golongan fitokimia yang bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (gula) sehingga flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar dan larut pada pelarut polar seperti etanol, metanol, aseton, air, dan lain-lain⁹. Berdasarkan hal tersebut peneliti tertarik untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* terhadap bakteri Gram positif dan negatif.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

Penelitian yang digunakan adalah penelitian berbasis eksperimental laboratorium secara in vitro dengan metode sumuran dan makrodilusi. Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada Bulan Mei-Agustus 2018.

Sampel Penelitian

Adapun kriteria sampel yang digunakan adalah senyawa alga *Cladophora sp* dari Pantai selatan terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Bakteri Coba

Bakteri *S.aureus* dan *E.coli* yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Ekstraksi Alga

Ekstraksi alga *Cladophora sp.* dengan menggunakan metode dekok dan maserasi. Metode dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature 90°C selama 30 menit¹⁰. Campur alga yang sudah dihaluskan sebanyak 50 Gram dalam panci (wadah) dengan aquadest sebanyak 500 ml kemudian panaskan diatas tangas air selama 30 menit terhitung mulai suhu 90 °C sambil sekali-sekali diaduk. Setelah itu saring dengan menggunakan kertas saring kemudian dimasukkan didalam tabung erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil.

Metode lainnya adalah maserasi, pertama alga ditimbang menggunakan neraca digital sebanyak 100 Gram dan di campurkan dengan pelarut kloroform sebanyak 1000 ml untuk direndam didalam Erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan dalam shaker water bath dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu hasil ekstrak disaring dengan vacuum buchner dan di evaporasi pada suhu 40°C. Selanjutnya ekstrak dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C. Bila ekstrak telah kering dilarutkan kembali dengan kloroform hingga diperoleh ekstrak cair¹¹.

Skrining Fitokimia

Pada uji flavonoid ekstrak sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian diuji flavonoid dengan test alkaline yaitu ekstrak ditambahkan dengan 1 ml NaOH 10 %. Interpretasi hasil dengan melihat pembentukan warna jingga/orange¹².

Pada uji tanin ekstrak sebanyak 1 ml yang direaksikan dengan FeCl₃ 1 %, jika terjadi perubahan warna menjadi coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin¹².

Pada uji fenolik ekstrak sebanyak 1 ml direaksikan dengan besi (III) klorida 1 % kemudian jika terjadi perubahan warna menjadi lebih hitam yang dibandingkan dengan ekstrak murni maka menunjukkan adanya fenol¹².

Uji alkaloid dengan menggunakan pereaksi mayer. Ekstrak sebanyak 1 ml ditambah dengan 2 tetes larutan pereaksi mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning¹³.

Uji terpenoid dilakukan dengan ekstrak 5 mL ditambah dengan 3 mL H₂SO₄ pekat. Adanya warna coklat kemerahan antar muka lapisan menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder golongan terpenoid¹⁴.

Uji saponin dilakukan dengan test foam yakni dengan ekstrak dilarutkan 2 ml dalam air, kemudian dikocok selama 15 menit. Pembentukan busa mengindikasikan terbentuknya saponin, dan penambahan HCl tidak menghilangkan busa tersebut¹².

Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif menggunakan antibiotik *amoxicillin* 500 mg yang didapatkan dari apotik yang kemudian diencerkan dengan 100 ml aquades, sehingga didapatkan konsentrasi 5 mg/ml¹⁵.

Zone of Inhibition (ZOI)

Tahap yang dilakukan untuk melakukan uji zona hambat yaitu dengan mempersiapkan biakan agar yang telah diinokulasi bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dengan pola lawn pada seluruh permukaan media agar, ekstrak alga dan antibiotik *amoxicillin*. Setelah itu dibuat lubang sumuran dengan menggunakan alat sumuran nomor 2 dengan diameter $\pm$ 6 mm. Setiap lubang diisi 30 μ l dengan variasi konsentrasi sampel yang berbeda yakni 100%, 50 %,25%, 12,5% dan 6,25% dengan menggunakan mikropipet. Aquades dan kloroform sebagai kontrol negatif dan *amoxicillin* sebagai kontrol positif. Selanjutnya di inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C 18-24 jam. Untuk mengetahui diameter dari zona hambat yaitu dengan melihat zona bening yang mengitari sumuran. Pengukuran zona hambat menggunakan mistar dengan ketelitian 0,5 mm¹⁵.

Kadar Hambat Minimum (KHM)

Uji kadar hambat minimum dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah inkubasi selama 24 jam¹⁶. Apabila dalam percobaan didapatkan warna yang jernih setelah pemberian antibakteri dengan dosis terkecil maka antibakteri tersebut memiliki kadar hambat terhadap mikroorganisme.

Pada uji KHM dekokta dan ekstrak kloroform alga *Cladophora sp.* metode yang digunakan adalah makrodilusi yaitu dengan menggunakan tabung reaksi. Variasi konsentrasi ekstrak alga yang digunakan sebesar 100%, 50 %,25%, 12,5% dan 6,25%. Setelah itu persiapan tabung reaksi yang masing-masing diisi 1000 μ l ekstrak alga, 500 μ l bakteri dan 500 μ l *Nutrient Broth*. Dan juga dibuat kontrol positif dan negatif. Kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 18-24 jam. Lakukan pengamatan terhadap perubahan warna menjadi jernih dari setiap tabungnya untuk kontrol negatif dan terdapat endapan dan keruh untuk kontrol positif. Pada kelompok perlakuan

dibandingkan hasilnya dengan kontrol positif maupun negatif¹⁷.

Kadar Bunuh Minimum (KBM)

KBM dekokta dan ekstrak kloroform alga *Cladophora sp.* menggunakan variasi konsentrasi sebesar 100%, 50 %,25%, 12,5% dan 6,25%. Masing-masing dari konsentrasi tersebut akan digoreskan menggunakan ose pada plate yang telah terisi oleh NA padat secara berurutan dari konsentrasi tertinggi ke konsentrasi terendah. Plate kemudian diinkubasikan selama 18-20 jam pada suhu 37°C. Apabila pada konsentrasi konsentrasi tertentu tidak terdapat pertumbuhan bakteri berarti memiliki KBM dan apabila terdapat pertumbuhan bakteri berarti tidak memiliki KBM¹⁵.

Analisa Data

Data hasil penelitian diuji normalitas dan homogenitas kemudian dianalisa menggunakan *Kruskal-Wallis* yang dioperasikan melalui proGram SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 23.0. Data diameter ZOI dari dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* selanjutnya dianalisa menggunakan *Mann-Whitney*. Nilai perbedaan dianggap bermakna apabila $p < 0.05$.

HASIL PENELITIAN

Skrining Fitokimia

Berdasarkan skrining fitokimia pada tabel 1 dekokta *Cladophora sp.* didapatkan hasil positif pada golongan metabolit sekunder flavonoid, fenolik, terpenoid dan alkaloid. Sedangkan, pada ekstrak kloroform *Cladophora sp.* didapatkan hasil positif pada golongan metabolit sekunder tanin dan fenolik. Pada pengujian golongan metabolit sekunder lainnya tidak didapatkan adanya hasil positif.

Zone of Inhibition (ZOI)

Zona inhibisi dari pengujian aktivitas antibakteri dari dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* didapatkan hasil rerata diameter terbesar terdapat pada konsentrasi 100%. Sedangkan rerata diameter terkecil terdapat pada konsentrasi 50% pada semua ekstrak kecuali, pada dekokta *Cladophora sp.* terhadap bakteri *s.aureus* sampai konsentrasi 25%. Aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif memiliki zona inhibisi yang lebih besar dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Dari hasil tersebut juga dapat diurutkan bahwa sensitivitas tertinggi terdapat pada dekokta *Cladophora sp.* terhadap bakteri *S.aureus* dan terendah pada ekstrak kloroform *Cladophora sp.* terhadap bakteri *E.coli*. Pengaruh konsentrasi dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* yang dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 2

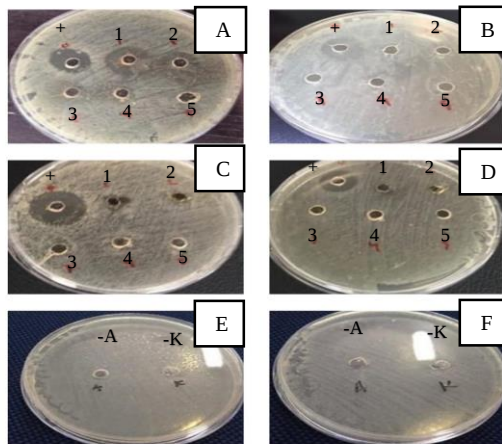
Tabel 1 Hasil uji skrining fitokimia dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.*

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Dekokta		Kloroform	
			Perubahan warna	Keterangan	Perubahan warna	Keterangan
1	Flavonoid	NaOH 10%	Orange	+	Tidak berwarna orange	-
2	Tanin	FeCl ₃	Tidak berwarna biru kehitaman	-	biru kehitaman	+
3	Fenolik	FeCl ₃	lebih hitam	+	lebih hitam	+
4	Terpenoid	Liebermann-Burchard	cincin merah jingga	+	Tidak ada cincin merah jingga	-
5	Alkaloid	Meyer	Terbentuk gumpalan putih	+	Tidak ada gumpalan putih	-
6	Saponin	Aquadest	Dragendorff	+	tidak ada endapan	-
			terbentuk endapan orange			
			tidak tampak busa	-	tidak tampak busa	-

Konsentrasi (%)	Diameter ZOI (mm)±SD			
	Dekokta		Kloroform	
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Kontrol (+)	18,17±1,17	14,33±1,97	18,17±1,17	14,33±1,97
Kontrol (-)	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a
100	16,67±1,53 ^b	8,33±1,53 ^{ab}	10,67±0,58 ^{ab}	10,00±1,00 ^{ab}
50	15,33±1,53 ^b	7,33±0,58 ^{ab}	10,33±0,58 ^{ab}	8,33±0,58 ^{ab}
25	11,67±2,08 ^{abc}	0 ^{acd}	0 ^{acd}	0 ^{acd}
12,5	0 ^{acde}	0 ^{acd}	0 ^{acdd}	0 ^{acd}
6,25	0 ^{acde}	0 ^{acd}	0 ^{acd}	0 ^{acd}

Keterangan : Kontrol (+) : Amoxicillin; Kontrol (-) : Aquades (dekok), Kloroform (maserasi). Data dalam *mean*±SD dan pada dekokta *Cladophora sp.* telah diuji dengan *One Way ANOVA*, pada ekstrak kloroform *Cladophora sp.* telah diuji statistik menggunakan *Kruskal Wallis*. Notasi a, berbeda signifikan terhadap kontrol; notasi b, berbeda signifikan terhadap kontrol; notasi c, berbeda signifikan terhadap konsentrasi 100%; notasi d, berbeda signifikan terhadap konsentrasi 50%; notasi e, berbeda signifikan terhadap konsentrasi 25%.

Tabel 2 Zona Inhibisi Dekokta dan Ekstrak Kloroform *Cladophora sp.* terhadap Bakteri *S.aureus* dan *E.coli*



Gambar 1 ZOI dari Dekokta *Cladophora sp* terhadap bakteri *S.aureus* (A) dan *E.coli*(B) dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* terhadap bakteri *S.aureus* (C) dan *E.coli* (D), kontrol negative pada bakteri *S.aureus* (E) dan control negative pada bakteri *E.coli* (F).
Keterangan : + : Amoxicillin, -a : Aquadest, -k : kloroform, 1 : konsentrasi 100 %, 2 :konsentrasi 50 %, 3 : konsentrasi 25 %, 4 : konsentrasi 12,5 %, 5 : konsentrasi 6,25 %

Kadar Hambat Minimum (KHM)

Pada pengujian KHM dengan metode makrodilusi Kadar Hambat Minimum dari dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* hanya ditemukan pada konsentrasi 100% dan 50%, sedangkan pada konsentrasi 25%,

12,5% dan 6,25% tidak temukan kadar hambat minimum. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai termdah KHM terdapat pada konsentrasi 50%. Data KHM ditampilkan pada tabel 3

Tabel 3 Hasil Rerata Uji Kadar Hambat Minimum Dekokta dan Ekstrak Kloroform *Cladophora sp.* terhadap Bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

Konsentrasi(%)	Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)			
	Dekokta		Kloroform	
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Kontrol (+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Kontrol (-)	(-)	(-)	(-)	(-)
100	(-)	(-)	(-)	(-)
50	(-)	(+)	(-)	(+)
25	(+)	(+)	(+)	(+)
12,5	(+)	(+)	(+)	(+)
6,25	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan : Kontrol (+): Bakteri, Kontrol (-) :NaCl, +: keruh dan ada endapan, -: jernih dan tidak ada endapan

Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Hasil dari KBM dapat dievaluasi dengan melihat adanya koloni bakteri yang tumbuh dari setiap konsentrasi. Pada dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* tidak ditemukan adanya koloni bakteri yang tumbuh pada setiap konsentrasi. Hasil

Konsentrasi(%)	Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)			
	Dekokta		Kloroform	
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Kontrol (+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Kontrol (-)	(-)	(-)	(-)	(-)
100	(+)	(+)	(+)	(+)
50	(+)	(+)	(+)	(+)
25	(+)	(+)	(+)	(+)
12,5	(+)	(+)	(+)	(+)
6,25	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan : Kontrol (+): Bakteri, Kontrol (-) :NaCl, +: tumbuh bakteri, -: tidak tumbuh bakteri

Tabel 4 Rerata Kadar Bunuh Minimum Dekokta dan Ekstrak Kloroform *Cladophora sp.* terhadap Bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Berdasarkan tabel 5.1 bahwa alga *Cladophora sp.* memiliki senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dengan menggunakan pelarut aquades dibandingkan dengan pelarut kloroform. hal tersebut kemungkinan karena perbedaan jenis pelarut yang digunakan, aquades yang bersifat polar dan kloroform yang bersifat non polar. Kemungkinan dekokta

Cladophora sp. yang memiliki sifat polar (senyawa hidrofilik) memiliki efek antibakteri terhadap dinding sel, karena dinding sel bakteri tersusun oleh sebagian

besar komponen hidrofilik. Sehingga dekokta *Cladophora sp.* lebih mudah menembus dinding sel *S.aureus* dikarenakan lapisan petidoglikan yang tersusun atas senyawa hidrofilik. Sedangkan, ekstrak kloroform yang memiliki sifat non polar (senyawa lipofilik) lebih efektif dalam mnyerang dinding sel dan membrane sel. Sehingga ekstrak kloroform lebih mudah menembus dinding sel *E.coli* yang tersusun oleh sebagian besar komponen lipofilik seperti lipopolisakarida, lipoprotein fosfolipid (lapisan luar) dan lapisan peptidoglikan yang tipis¹⁸.

Dekokta *Cladophora sp.* memiliki senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik, terpenoid dan alkaloid. Hal tersebut menunjukkan adanya kemampuan dekokta *Cladophora sp.* sebagai antibakteri. Flavonoid bekerja dengan mengganggu replikasi DNA dengan menghambat DNA *gyrase* dan membran plasma bakteri sehingga meningkatkan permeabilitas dan lisisnya dinding bakteri (Paiva *et al*, 2010). Senyawa fenolik dapat sebagai antibakteri dengan mekanisme mengganggu dinding sel bakteri¹⁹. Dan senyawa terpenoid memiliki efek sebagai antibakteri dengan menginisiasi gangguan pada membrane plasma²⁰. Serta alkaloid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel²¹.

Ekstrak kloroform *Cladophora sp.* memiliki senyawa metabolit sekunder tanin dan fenolik. Senyawa tanin dapat mengganggu dinding sel dan membran plasma dan mekanisme kerjanya dengan menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak terbentuk²² (Lim *et al*, 2006). Dan senyawa fenolik dapat sebagai

antibakteri dengan mekanisme mengganggu dinding sel bakteri¹⁹.

Zone of Inhibitoin (ZOI) Dekokta dan Ekstrak Kloroform *Cladophora sp.*

Hasil ZOI pada tabel 5.2 bekerja lebih kuat terhadap bakteri Gram positif (*S.aureus*) baik pada dekokta maupun ekstrak kloroform *Cladophora sp.* dan hal tersebut diduga karena struktur dinding sel yang dimiliki oleh bakteri Gram positif tidak memiliki porin, yang mana porin bersifat selektif sehingga akan mengganggu proses antibakteri²³. Dan juga didukung dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik pada bakteri Gram positif yaitu *S.aureus*, *B.subtilis*, *S.pyogenes* dan *E.faecalis*. Selain itu, dekokta dan ekstrak kloroform juga memiliki zona hambat terhadap bakteri Gram negatif (*E.coli*) yang mana hal tersebut dikarenakan adanya metabolit sekunder fenolik. Pada penelitian tentang ekstrak etanol 70% *Cladophora sp.* diketahui bahwa sensitivitas tertinggi dari alga *Cladophora sp* terhadap bakteri Gram negatif terdapat pada bakteri *E.coli* dan juga adanya senyawa fenolik²⁴.

Jika dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk di sekitar kedua kelompok kontrol, diameter zona hambat dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* lebih kecil daripada zona hambat yang berada di sekeliling antibiotik *amoxicillin*, sedangkan pada sumur yang ditetesi akuades dan kloroform tidak terbentuk zona hambat. Terbentuknya diameter zona hambat suatu antibiotik yang lebih besar dapat terjadi karena telah diketahui MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari antibiotik tersebut terhadap bakteri yang dihambatnya²⁵. Selain itu, konsentrasi dari dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* juga dapat mempengaruhi besarnya ZOI. Hasil yang menunjukkan jika semakin tinggi konsentrasi, semakin besar pula zona bening (*Clear Zone*) yang terbentuk disekitaran sumuran hal tersebut didukung dengan teori bahwa semakin tinggi konsentrasi, jumlah senyawa antibakteri pada ekstrak yang dilepaskan semakin besar sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut kedalam sel bakteri²⁶.

Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Yuningsih (2007) daerah hambatan ekstrak kurang dari 5 mm tergolong lemah, antara 5 mm sampai 8 mm tergolong lemah, antara 10 sampai 20 mm tergolong kuat dan lebih dari 20 mm tergolong sangat kuat. Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri dari dekokta *Cladophora sp.* menghasilkan zona hambat terbaik yaitu 16,67 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan 8,33 mm terhadap *E. coli*²⁷. Jika dimasukkan ke dalam rentang ketentuan kekuatan antibakteri tergolong kuat terhadap *S.aureus* dan tergolong lemah terhadap *E.coli*. Sedangkan, pada ekstrak kloroform

Cladophora sp. menghasilkan zona hambat terbaik yaitu 10,67 mm terhadap bakteri *S.aureus* dan 10 mm terhadap bakteri *E.coli*. Jika dimasukkan dalam rentang ketentuan kekuatan antibakteri tergolong kuat terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Secara umum zona inhibisi pada dekokta *Cladophora sp.* dibandingkan dengan ekstrak kloroform sama-sama memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. namun pada bakteri *S.aureus* dekokta memiliki ZOI yang lebih besar dibandingkan ekstrak kloroform. Hal tersebut dikarenakan perbedaan pelarut yang digunakan yaitu aquades dan kloroform yang berbeda jenis kepolarannya. Salah satu metabolit sekunder dari dekokta *Cladophora sp.* yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan golongan fitokimia yang bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (gula) sehingga flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar dan larut pada pelarut polar seperti etanol, metanol, aseton, air, dan lain-lain⁹. Selain itu juga, bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang bersifat polar sehingga menyebabkan dinding sel bakteri hanya dapat ditembus dan dirusak oleh senyawa yang bersifat polar²⁸. Sedangkan pada bakteri *E.coli*, ekstrak kloroform memiliki ZOI yang lebih besar dibandingkan dekokta. Hal tersebut dikarenakan bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang bersifat non polar sehingga lebih mudah ditembus oleh senyawa yang bersifat non polar¹⁸.

Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Uji Bunuh Minmum (KBM) Dekokta dan Ekstrak Kloroform *Cladophora sp.*

Berdasarkan hasil ZOI bahwa semakin rendah konsentrasi maka semakin kecil aktivitas aktivitas antibakteri yang dimiliki. Hal tersebut sesuai dengan hasil data KHM tunggal pada dekokta dan ekstrak kloroform menunjukkan bahwa nilai KHM pada konsentrasi yang semakin rendah juga menunjukkan aktivitas antibakteri yang kecil juga. Nilai KHM terkecil pada bakteri *S.aureus* lebih baik dibandingkan dengan *E.coli* yaitu pada konsentrasi 50%. Hal tersebut dikarenakan perbedaan struktur penyusun bakteri dan diketahui bahwa struktur dinding sel bakteri Gram negatif tersusun lebih kompleks yaitu berlapis tiga yang terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida dan peptidoglikan²⁹.

Secara umum dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* hal tersebut kemungkinan baik pada dekokta maupun ekstrak kloroform memiliki metabolit sekunder fenolik. Fenolik menurut Corn dan Stumpf (1976) merupakan suatu alkohol yang bersifat asam lemah sehingga disebut juga asam karbolat. Kondisi yang asam membuat fenol dapat bekerja menghambat pertumbuhan bakteri³⁰.

Hasil KBM dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* menunjukkan bahwa tidak memiliki efek bakterisidal terhadap bakteri *S.aureus* maupun *E.coli*. Hal tersebut kemungkinan dekokta dan ekstrak kloroform hanya dapat bekerja secara bakteriostatik yang mana pada bakteri *S.aureus* hanya sampai pada konsentrasi 50 % dan pada bakteri *E.coli* hanya pada konsentrasi 100%. Sehingga dapat dikatakan bahwa dekokta dan ekstrak kloroform efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisa data dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa :

1. Dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* memiliki aktivitas antibakteri lebih kuat terhadap bakteri Gram positif (*S.aureus*)
2. Pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dekokta *Cladophora sp* memiliki zona hambat yang lebih besar daripada ekstrak kloroform *Cladophora sp.*
3. Pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* ekstrak kloroform *Cladophora sp* memiliki zona hambat yang lebih besar dari dekokta *Cladophora sp*
4. Dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik).

SARAN

Peneliti menyarankan hal- hal berikut untuk menunjang penelitian selanjutnya guna pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan :

1. Dekokta *Cladophora sp* memiliki kandungan metabolit sekunder flavonoid, fenolik, terpenoid dan alkaloid.
2. Ekstrak kloroform memiliki kandungan metabolit sekunder tanin dan fenolik.
3. Pada uji aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*, dekokta *Cladophora sp* memiliki zona hambat yang lebih besar daripada ekstrak kloroform *Cladophora sp.*
4. Pada uji aktivitas antibakteri *E.coli*, ekstrak kloroform *Cladophora sp* memiliki zona hambat yang lebih besar dari dekokta *Cladophora sp*
5. Dekokta dan ekstrak kloroform *Cladophora sp.* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik).
6. Dekokta dan ekstrak kloroform alga *Cladophora sp.* dapat melindungi kesehatan saluran pencernaan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA yang telah memberikan bantuan secara finansial, laboratorium Biokimia FK UNISMA dan FK UNISMA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. Pedoman penggunaan antibiotik. Jakarta. Departemen Kesehatan RI. 2011
2. Refdanita, dkk. 2004. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001 – 2002. Dalam : Makara, Kesehatan. 8(02) : 41-48.
3. Fabrowska, J., Leska, B. & Scroeder, G. Freshwater *Cladophora Glomerata* as A New Potential osmetic Raw Material. CHEMIK 69, 8, 491-497. 2015
4. Basir A, Tarman K, Desniar. Aktivitas antibakteri dan antioksidan alga hijau *Halimeda gracilis* dari Kabupaten Kepulauan Seribu. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 20(2): 211-218. 2017
5. Soltani, S., Saadatmand, S., Khavarinejad, R & Nejadstatti, T. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Cladophora glomerata* (L.) Kutz. In Caspian Sea Coast, Iran. African Journal of Biotechnology, Vol. 10(39), pp.7684-7689. 2011
6. Subathraa, K., dan Poonguzhali, T.V. Effect of Different Extracts of *Chaetomorpha antennina* and Their Phytochemical Screening. <http://www.currentsciencejournal.info/issuespdf/Subathra.pdf>. Diakses tanggal 14 agustus 2018. 2013
7. Alfiyaturommah, Rachmawati Ningsih, Yusnawan E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Kloroform dan n-Heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare* asal Pantai Kapong Pamekasan terhadap Bakteri *Sargassum vulgare*. Jurnal Skripsi Kimia. Vol. 3 no.1 :57-66. 2014
8. Sanchez, S., Gassan H., Martinez, E. Use of Industrial Wastewater from Olive-Oil Extraction for biomass Production of *Seenedesmus obliquus*. Bioresource Technology 99 (1111-1117). 2007
9. Melodita, R. Identifikasi Pendahuluan Senyawa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cincau Hitam dengan Perlakuan Jenis Pelarut. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 2011
10. Departemen Kesehatan RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta, 17, 31-32. 2000
11. Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, Jurnal Kesehatan, 7(2): 361-367. 2014
12. Ikalinus, R., Widyatusti, SK., Setiasih, NLE. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). Indonesia Medicus Veterinus. 4(1) : pp.71-79. 2015
13. Lailiyah, A., Adi, T.K., Hakim, A. & Yusnawan, E. Kapasitas Antioksidan dan Kandungan Total Senyawa Fenolik Ekstrak Kasar Alga Coklat *Sargassum cristaeifolium* dari Pantai Sumenep

- Madura. *ALCHEMY*. Vol.3 No.1 Maret 2014: hal 18-30. 2014
14. Bintari, Y, R dan Helmin, E . Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari *Cladophora* sp. Dengan Metode Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFMAE). Fakultas Kedokteran Universitas Islam. Malang. 2017
 15. Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. *Microbiology : An Introduction*. 12th Edition. Pearson Education, Inc. San Fransisco. 2017
 16. Andrews, J.M. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46 (Suplement SI), pp 5-6. 2001
 17. Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. *Microbiology : An Introduction*. 12th Edition. Pearson Education, Inc. San Fransisco. 2017
 18. Sumiati, E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Etanol Biji Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* BI) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi*. *Jurnal Ilmiah Biologi*. Vol 2. No.1. 1-10. 2014
 19. Nohynek LJ, Alakomi H, Kahkonen MP et al. Berry Phenolic: Antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer* ; 54(1): 18-32. 2006
 20. Paiva, P. M.G., Gomes, F.S., Napoleao, T.H., Sa, R.A., Correia, MTS., & Coelho, LCB. Antimicrobial Activity of Secondary Metabolites and Lectins from Plants. *Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* ; A Mendez-Vilas(Ed), 396-406. 2010
 21. Darsana, I.G.O. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara In Vitro, *Indonesia Medicus Veterinus*, 1 (3), 337 – 351. 2012
 22. Lim, T. et al., Effective Antibiotics in Combination against Extreme Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* with Decreased Susceptibility to Polymyxin B. *PloS ONE*, 6(12), pp.8–14. 2011
 23. Pages, J.M., James, C.O. & Winterhalter, m. *The Porin and Permeating Antibiotic : A Selective Diffusion Barrier in Gram-Negative*. Macmillan Publisher Limited. 2008
 24. Sahal, M., Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% *Cladophora* sp. perairan tamban kabupaten Malang. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Malang. 2017
 25. Jarvinen H, Tenovuo J, Huovinen P. In vitro susceptibility of *Streptococcus mutans* to chlorhexidine and six other antimicrobial agents. *Journal ASM*; p. 1158-9. 1993
 26. Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S.A., Mietzener, T.A. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology , 25th Edition. LANGE Medical Book. 2012.
 27. Yuningsih, R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jawer Kotok (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.). Skripsi Tidak Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor. 2007
 28. Selly, M. L., Lantang, D., Dirgantara. S. Uji Aktivitas Antibakteri Alga Hijau (*Ulva* sp.) dari pantai Sorido Biak terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Saphylococcus aureus*. *Pharmacy Medical Journal*. Vol(1) no (1). Fakultas MIPA Universitas Cendrawasih. Jayapura. 2018
 29. Vollmer W, et al. Architecture of Peptidoglycan : More Data Ana More Models. *Trend in Microbiol*. Vol 18, No.2. 2010
 30. Corn, E. E. and Stumpf, P.K. *Outlines of Biochemistry*. John Wiley and Sons , Inc. New York. 1976