

PENGARUH VARIASI PELARUT TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfus PADA BAKTERI *S.aureus* DAN *E.coli*

Sri Dewi Nirwana, M. Zainul Fadli, Yoni Rina Bintari
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email: sridewinirwanabaru@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Resistensi antibiotik di Indonesia terus meningkat, sehingga perlu ditemukan antibiotik baru. *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfus (GV) mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, terpenoid, dan alkaloid yang memiliki efek antibakteri. Pelarut dalam ekstraksi dapat mempengaruhi pengikatan dari metabolit sekunder. Namun penelitian tentang variasi pelarut pada proses ekstraksi masih terbatas. Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh variasi terhadap aktivitas antibakteri dari GV.

Metode: Ekstraksi GV dilakukan dengan metode maserasi menggunakan variasi etanol 70% atau kloroform. Yang kemudian uji fitokimia menggunakan larutan pereaksi secara kualitatif. Uji aktivitas antibakteri dinilai melalui Zona Inhibisi (ZOI) dengan metode sumuran, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan metode makrodilusi secara kualitatif pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli*.

Hasil: hasil uji fitokimia ekstraksi etanol 70% dan kloroform didapatkan bahan aktif berupa terpenoid pada ekstrak etanol 70%. Dan alkaloid, terpenoid, serta flavonoid pada ekstrak kloroform. Ekstrak kloroform memiliki aktivitas antibakteri secara signifikan pada bakteri *S.aureus* yaitu dengan nilai ZOI terbesar 11.33 mm dan aktivitas antibakteri pada bakteri *E.coli* namun tidak signifikan. Sedangkan ekstrak etanol 70% tidak memiliki aktivitas antibakteri pada *S.aureus* dan *E.coli*.

Kesimpulan: Pelarut kloroform ekstrak *Gracilaria verrucosa* memiliki efek antibakteri terhadap *S.aureus*, sedangkan ekstrak etanol 70% tidak memiliki efek antibakteri pada *S.aureus* dan *E.coli*.

Kata kunci: *Gracilaria Sp.*, Antibakteri, *S.aureus*, *E.coli*.

EFFECT OF SOLVENT VARIATION ON ANTIBACTERIAL ACTIVITIES FROM *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfus EXTRACTS IN *S.aureus* AND *E.coli* BACTERIA

Nirwana, SD, Fadli, M Z, Bintari, YR
Faculty of Medical Malang Islamic University
Email: sridewinirwanabaru@gmail.com

ABSTRACT

Background: Antibiotic resistance in Indonesia continues to increase, so new antibiotics need to be found. *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfus (GV) contains secondary metabolites such as flavonoids, terpenoids, and alkaloids which have antibacterial effects. Solvents in extraction can affect binding of secondary metabolites. However, research on variations in solvents in the extraction process is still limited. Therefore this study aims to look at the effect of variations on the antibacterial activity of GV.

Method: GV extraction was carried out by maceration method using 70% ethanol or chloroform variation. The phytochemical test then used reagent solution qualitatively. The antibacterial activity test was assessed through the Inhibition Zone (ZOI) with the well method, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Killer Concentration (KBM) by qualitative macrodilution method in *S. aureus* and *E. coli*.

Results: The results of phytochemical test of 70% ethanol extract and chloroform found that the active ingredient was terpenoid in 70% ethanol extract. And alkaloids, terpenoids, and flavonoids in chloroform extract. Chloroform extract has significant antibacterial activity in *S.aureus* bacteria with the largest ZOI value of 11.33 mm and antibacterial activity in *E. coli* bacteria but not significant. While 70% ethanol extract does not have antibacterial activity on *S. aureus* and *E. coli*.

Conclusion: : Chloroform solvent *Gracilaria verrucosa* extract has an antibacterial effect on *S.aureus*, while 70% ethanol extract does not have an antibacterial effect on *S.aureus* and *E.coli*.

Keywords: *Gracilaria Sp.*, Antibacterial, *S. aureus*, *E. coli*.

PENDAHULUAN

Masalah yang dihadapi oleh Indonesia beberapa tahun kebelakang adalah penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol. Hal ini menimbulkan beberapa masalah yang serius seperti peningkatan resistensi terhadap antibiotik. Resistensi yang dihadapi tidak diikuti dengan perkembangan dari penelitian dan penemuan tentang antibiotik¹.

G. verrucosa termasuk dalam alga merah, merupakan tumbuhan air laut yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, dikarenakan adanya kandungan bahan aktif didalam metabolit sekunder yang mampu membunuh beberapa bakteri^{2,3}. Sehingga *G. verrucosa* merupakan salah satu herbal yang dapat digunakan sebagai sumber untuk pembuatan antibiotik⁴.

Makhluk hidup memiliki kemampuan dalam menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder adalah produk dari metabolisme yang melibatkan senyawa-senyawa organik dari metabolit primer, yang diproduksi dalam keadaan tertentu dan dibutuhkan untuk kelangsungan hidup tumbuhan. Metabolit ini memiliki aktifitas biologi dan farmakologi, kemudian dipelajari sebagai salah satu pilihan dalam pengembangan farmasi yang lebih poten dengan efek toksisitas minimal.

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *G. verrucosa* dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, metabolit sekunder yang terkandung antaralain alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Pelarut polar dan non polar memiliki kemampuan yang berbeda dalam mengikat metabolit sekunder^{5,6}.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh variasi pelarut dari ekstrak *G. verrucosa* terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri *S. aureus* (gram positif) dan *E. coli* (gram negatif). Aktivitas antibakteri dilihat dari nilai ZOI, KHM, dan KBM.

METODE PENELITIAN

Pendekatan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vitro* dengan metode sumuran dan makrodilusi. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh variasi pelarut dari ekstrak *G. verrucosa* terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri gram positif dan negatif.

Tempat dan waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang pada bulan Mei-Agustus 2018.

Sampel penelitian

Kriteria sampel yang digunakan adalah *G. verrucosa*. Pembuatan simplisia dikeringkan dalam suhu ruangan dan ditumbuk sampai halus.

Bakteri coba

Bakteri *S. aureus* (bakteri positif) dan bakteri *E. coli* (bakteri negatif) yang didapatkan dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Bakteri ditumbuhkan pada media agar (*nutrien agar*) selama ± 24 jam. Pembuatan bakteri menggunakan suspensi 10^8 CFU/ml dengan metode 0,5 *McFarland*, serta pembuatan bakteri dengan suspensi 10^7 CFU/ml.

Pembuatan ekstrak dan konsentrasi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. *G. verrucosa* sebanyak 100 gram direndam dalam 1 liter pelarut etanol 70%, kemudian dishaker selama 24 jam. Selanjutnya rendaman ekstrak etanol 70% disaring dan ditampung dalam tabung erlenmeyer. Pemisahan ekstrak etanol 70% dengan pelarutnya menggunakan alat rotary vacuum evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak yang akan dihasilkan yaitu ekstrak kental. Pada pembuatan ekstrak dengan pelarut kloroform dilakukan dengan cara yang sama seperti pada etanol 70%⁷.

Skrining fitokimia

Pengujian dilakukan dengan mengambil masing-masing 2 ml sampel yang sebelumnya sudah diekstrak menggunakan pelarut etanol 70% dan kloroform ke dalam tabung reaksi yang berbeda. uji tanin dilakukan dengan penambahan 2 ml FeCl_3 , yang akan ditandai dengan warna putih⁸. Uji flavonoid dengan memasukkan ekstrak 2 ml dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan Mg dan larutan HCl pekat, perubahan warna menjadi warna orange atau merah tomat menandakan ekstrak tersebut mengandung flavonoid^{9,10}. Uji fenolik dengan menambahkan beberapa tetes ferric klorida, adanya fenolik ditandai dengan warna biru¹¹.

Uji alkaloid bisa menggunakan pereaksi mayer dan dragendrof, dengan menambahkan masing-masing pereaksi 1 ml pada tabung yang berbeda, adanya alkaloid dengan penambahan pereaksi mayer ditandai dengan endapan warna kuning atau putih, dan untuk pereaksi dragendrof ditandai dengan endapan warna jingga sampai merah coklat¹¹. Uji terpenoid dilakukan dengan menambah 3 mL H_2SO_4 pekat. Adanya warna coklat kemerahan antar muka lapisan menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder golongan terpenoid¹¹.

Uji saponin dilakukan dengan test Foam. Ekstrak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dikocok beberapa saat. Adanya metabolit sekunder golongan saponin ditunjukkan dengan adanya pembentukan busa permanen kurang lebih 15 menit, dan tidak hilang jika ditambahkan dengan asam klorida pekat¹¹.

Pembuatan kontrol positif

Antibiotik amoxicillin digunakan sebagai kontrol positif dengan dosis 500 mg yang di encerkan dengan 100 mL aquades, kemudian didapatkan konsentrasi 5mg/ml¹².

Pembuatan kontrol negatif

Kontrol negatif untuk ZOI menggunakan Etanol 70% dan kloroform, untuk KHM dan KBM yaitu dengan komposisi antara lain; 500µL inokulasi bakteri, 1000µL NaCl dan *Nutrient Broth* sebanyak 500µL.

Zona inhibisi

Biakan murni *S.aureus* diambil biakan menggunakan ose, dan disuspensikan dengan NaCl fisiologis sebanyak 5 ml kemudian dihomogenkan sampai didapatkan kekeruhan yang setara dengan 10⁸ CFU/ml (McFarland). Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung sehingga tidak terlalu basa, dan dioleskan pada permukaan media Agar hingga rata, selanjutnya pada setiap petri dibuat 1 lubang sumuran sebesar ±6 mm. Setiap lubang sumuran diberi 20 µl ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda, 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%. Amoxicillin sebagai kontrol positif, etanol dan kloroform sebagai kontrol negatifnya, dilakukan pengulangan sebanyak 3x, kemudian *plate* diinkubasi selama ±18-20 jam dan dilakukan pengukuran zona bening menggunakan mistar¹².

Konsentrasi hambat minimum

Menentukan kadar hambat minimum ekstrak *G. verrucosa* ditentukan dengan menggunakan metode makrodilusi. Variasi sampel menggunakan variasi yang sama yang digunakan dalam pengukuran zona inhibisi. Setiap tabung reaksi diisi dengan 500µL inokulasi bakteri, 1000µL ekstrak dan *Nutrient Broth* sebanyak 500µL. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama ± 18-20 jam¹⁵.

Pengamatan hasil Uji KHM makrodilusi dilihat pada perubahan warna dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kelompok kontrol positif memiliki hasil warna yang keruh dan terdapat endapan putih dibawah tabung rekasi sedangkan untuk kelompok kontrol negatif memiliki hasil warna yang jernih¹⁶.

Konsentrasi bunuh minimum

Variasi konsentrasi yang akan digunakan dalam menilai kadar bunuh minimal yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%. Selanjutnya dari setiap konsentrasi akan diteteskan sebanyak 10µl pada setiap media agar, kemudian media yang sudah tetesi dengan masing-masing varian konsentrasi akan disimpan dengan suhu 37°C selama 18-20 jam. Jika pada tetesan dengan konsentrasi tertentu tidak tumbuh bakteri sedangkan pada konsentrasi lainnya didapatkan pertumbuhan dari bakteri maka konsentrasi tersebut merupakan nilai dari sampel.

Analisis data

Pengukuran ZOI dilakukan dengan menggunakan mistar dengan tingkat ketelitian 1 mm kemudian didapatkan data dalam bentuk rerata dan standart deviasi. Dalam menganalisa hasil atau data dalam bentuk data deskriptif, dan dilakukan analisa menggunakan analisis ragam uji *t-test*. Kemudian uji dilakukan dengan menggunakan uji non-parametrik yaitu *Kruskal wallis* dikarenakan data yang didapat tidak normal. Apabila $p < 0,05$ maka hasil yang diperoleh dianggap signifikan. Uji statistik tersebut dilakukan dengan program SPSS secara komputerisasi.

HASIL PENELITIAN

Uji skrining fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia ditampilkan pada tabel 1. Ekstrak etanol 70%, mengandung terpenoid, dan ekstrak kloroform mengandung flavonoid dan terpenoid.

Tabel 1. Uji skrining fitokimia ekstrak *G. verrucosa*

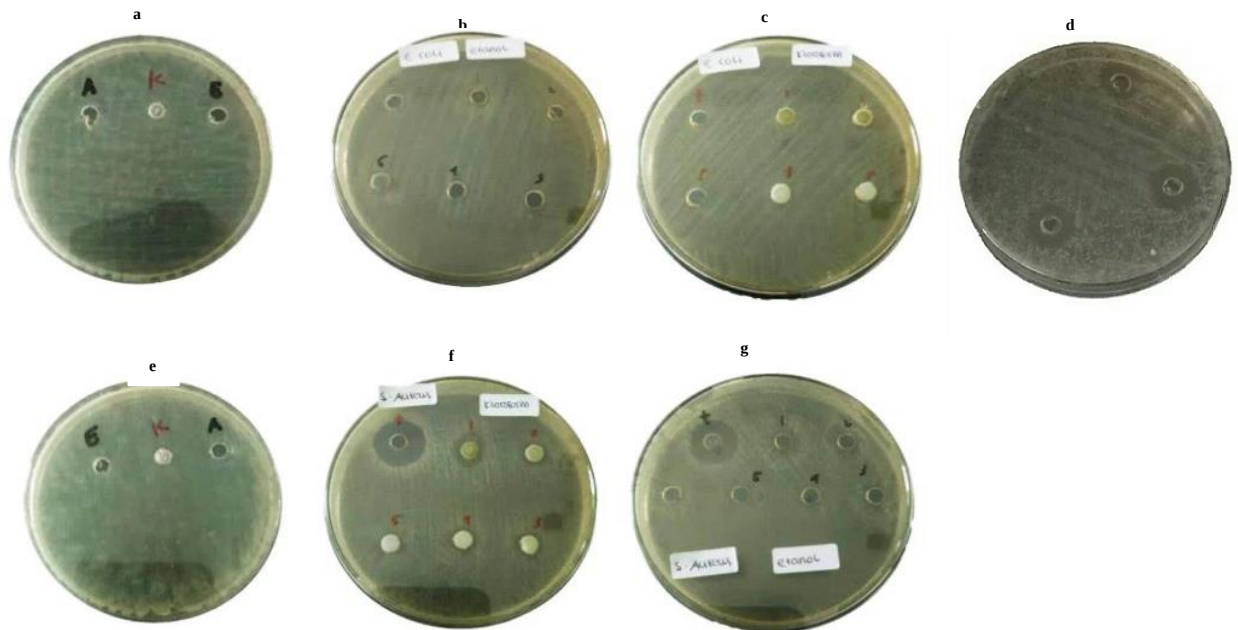
NO	Uji Fitokimia	Pereaksi	ekstrak Etanol 70%		Ekstrak Kloroform	
			perubahan warna	Hasil	perubahan warna	Hasil
1	Saponin	Aquades	tidak tampak busa	-	tidak tampak busa	-
2	Flavonoid	NaOH 10%	tidak berwarna jingga	-	warna jingga	+
3	Tanin	FeCl3	tidak berwarna biru	-	tidak berwarna biru	-
4	Fenolik	Ferric Klorida	tidak berwarna biru	-	tidak berwarna biru	-
5	Alkaloid	Meyer	Tidak ada endapan putih	-	Tidak ada endapan putih	-
		Liebermann-	kemerahan antar		kemerahan antar	
6	Terpenoid	Burchard	permukaan	+	permukaan	+

Zona inhibisi (ZOI).

Pengukuran ZOI pada ekstrak etanol 70% dan kloroform terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* ditampilkan pada **gambar 1**. Hasil pengukuran ZOI ekstrak etanol 70% pada bakteri *S.aureus* dengan konsentrasi 100 %, 50%, 25%, yaitu dengan rata-rata 4,33 mm, 0,33 mm, 3,00 mm. Ekstrak kloroform pada bakteri *S.aureus* dengan konsentrasi 100 %, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% yaitu dengan rata-rata 11,33 mm, 10 mm, 9,67 mm, 9,33 mm, 3 mm. Ekstrak kloroform pada bakteri *E.coli*

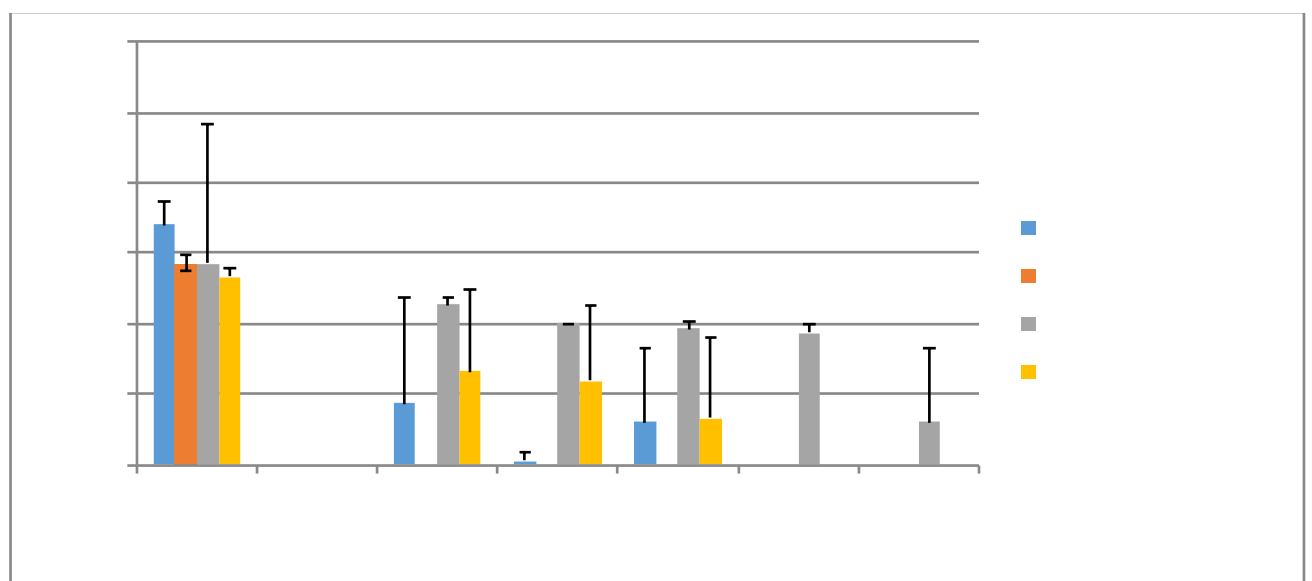
dengan konsentrasi 100 %, 50%, 25%, yaitu dengan rata-rata diameter 6,67 mm, 6 mm, 3,3 mm. Ekstrak etanol 70% *E.coli* tidak memiliki nilai ZOI.

Hasil analisa data ZOI ditampilkan pada **gambar 2**. Ekstrak kloroform pada bakteri *S.aureus* mempunyai nilai signifikan pada setiap konsentrasi terhadap kontrol. Ekstrak kloroform pada *E.coli*, ekstrak etanol pada *S.aureus*, berpengaruh namun tidak memiliki nilai signifikan.



Gambar 1. Zona inhibisi ekstrak etanol 70% dan kloroform *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfus pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

Keterangan : a: kontrol negatif *E.coli*, b: ekstrak etanol 70% pada *E.coli*, c: ekstrak kloroform pada *E.coli*, d: kontrol positif *E.coli*, e: kontrol negatif *S.aureus*, f: ekstrak etanol 70% pada *S.aureus*, g: ekstrak kloroform pada *S.aureus*.



Gambar 2. Grafik zona inhibisi ekstrak etanol 70% dan kloroform *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfus pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

Konsentrasi hambat minimum (K H M)

Hasil pengukuran K H M ekstrak etanol 70% dan ekstrak kloroform *G. verrucosa*, secara kualitatif pada **tabel 2**. Ada tidaknya K H M, ditandai dengan campuran yang jernih. K H M ekstrak etanol 70% terhadap bakteri *S. aureus*, yaitu pada konsentrasi 50%. K H M ekstrak kloroform

terhadap bakteri *S. aureus*, yaitu pada konsentrasi 25%. K H M ekstrak etanol 70% dan ekstrak kloroform pada bakteri *E. coli*, tidak memiliki nilai konsentrasi hambat minimum dimana ditandai dengan adanya kekeruhan pada konsentrasi 100%.

Tabel 2. Hasil uji konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol 70% dan kloroform *Gracilaria verrucosa*(Hudson) Papenfus pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Konsentrasi	Konsentrasi Hambat Minimum (K H M)			
	Etanol 70%		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

Konsentrasi bunuh minimum (K B M)

Penilaian kadar bunuh minimum yaitu dilakukan dengan melihat pertumbuhan bakteri pada media agar, pada **tabel 3**. K B M pada bakteri *S. aureus* dengan ekstrak etanol 70% yaitu 50%, dan

K B M pada bakteri *S. aureus* dengan ekstrak kloroform yaitu 25%. K B M bakteri *E. coli* dengan ekstrak etanol 70% yaitu 100%, sedangkan ekstrak kloroform tidak memiliki nilai K B M.

Tabel 3. Hasil uji konsentrasi bunuh minimum ekstrak etanol 70% dan kloroform *Gracilaria verrucosa*(Hudson) Papenfus pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

No	Konsentrasi(%)	Konsentrasi Bunuh Minimum (K B M)			
		Etanol 70%		Kloroform	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	Kontrol (+)	-	-	-	-
2	Kontrol (-)	+	+	+	+
3	100%	-	+	-	+
4	50% %	+	+	-	+
5	25%	+	+	-	+
6	12,5%	+	+	+	+
7	6,25%	+	+	+	+

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

PEMBAHASAN

Uji skrining fitokimia

Berdasarkan **tabel 1** menunjukkan bahwa hasil uji skrining fitokimia, pada ekstrak kloroform, memiliki kandungan metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak etanol 70%. Ekstrak kloroform mengandung flavonoid dan terpenoid. Sedangkan hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol 70% hanya mengandung terpenoid. Pada ekstrak kloroform memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih banyak saat diuji. Perbedaan ini disebabkan oleh sifat dari masing-masing pelarut, yaitu kloroform merupakan pelarut non polar sedangkan etanol 70% merupakan pelarut polar. Metabolit sekunder golongan polar lebih terikat dengan pelarut polar, sesuai dengan penelitian dari Supiyanti (2010). Semakin banyak gugus hidroksil maka semakin larut dalam pelarut polar. Pada hasil penelitian ini menunjukan bahwa pelarut nonpolar lebih kuat dalam mengikat metabolit sekunder¹⁷.

Kemungkinan kandungan yang terdapat pada *G. verrucosa* dominan senyawa nonpolar. Metabolit sekunder golongan non polar memiliki rantai karbon pendek akan mudah larut dalam pelarut non polar. Namun juga bisa mengikat senyawa aktif yang cenderung polar misalnya flavonoid, yang mana flavonoid memiliki rantai karbon yang panjang. Sehingga didapat metabolit sekunder yang lebih banyak terikat dengan kloroform. Adanya alkaloid pada ekstrak kloroform dikarenakan alkaloid memang lebih mudah larut dalam non polar sehingga lebih mudah dalam mengikat, dan alkaloid sukar larut dalam polar, oleh sebab itu pada ekstrak etanol 70% alkaloid tidak didapatkan kandungan alkaloid, didukung oleh penelitian (Romadanu 2014)¹⁸.

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri, yang mana flavonoid memiliki beberapa mekanisme yang berbeda, antara lain yaitu berinteraksi dengan DNA bakteri sehingga akan mengganggu permeabilitas dari dinding bakteri, mikrosom dan lisosom²¹. Penelitian lain yang dilakukan oleh Carlo *et al* (1999) dalam Siregar *et al* (2012) bahwa gugus hidroksil pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan dari komponen organik dan transpor nutrisi dalam bakteri, sehingga akan mengakibatkan munculnya efek toksik terhadap bakteri tersebut²².

Terpenoid dalam antibakteri bekerja dengan cara menghambat sintesis protein sehingga akan terjadi penumpukan dan terjadi perubahan komponen penyusun bakteri, sehingga akan menghambat dari perkembangan bakteri. Terpenoid larut dalam lipid sehingga lebih mudah untuk menembus dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif^{23,24}.

Zona inhibisi (ZOI) dan konsentrasi hambat minimum (KHM)

Zona inhibisi pada **tabel 1**, menunjukan bahwa diameter zoi terbesar berada pada

konsentrasi tinggi, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan semakin besar diameter dari zona bening (*Clear Zone*), dan semakin rendah konsentrasi maka semakin sempit juga diameter dari zona bening yang dibentuk. Pada konsentrasi 12.5 % tidak terbentuk zona bening, tidak terbentuknya zona bening kemungkinan disebabkan oleh rendahnya zat aktif yang terkandung dalam konsentrasi tersebut.

Ekstrak etanol 70% dan kloroform memiliki diameter terbesar dan KHM pada bakteri *S. aureus* (gram positif) dibandingkan dengan bakteri *E. coli* (gram negatif) yang memiliki diameter lebih kecil. Kemungkinan hal ini disebabkan karena susunan bakteri negatif yang lebih kompleks sehingga kemampuan antibakteri yang terkandung dalam *G. verrucosa* kurang mampu dalam merusak dari struktur yang kompleks dari bakteri tersebut. Menurut Brooks *et al.*, 2010 bakteri *E. coli* memiliki struktur yang tersusun oleh sel, kapsul, flagel dan juga mempunyai filli, sehingga kemampuan bakteri negatif dalam mempertahankan kehidupannya sangat kuat. Selain itu zat aktif sebagai antibakteri yang terkandung dalam ekstrak tersebut kemungkinan rendah. Sehingga tidak mampu untuk menembus struktur kompleks dari dinding bakteri tersebut.

Ekstrak etanol 70% dengan berbagai variasi konsentrasi pada bakteri *E. coli* tidak terbentuk zona bening (*Clear Zone*), hal ini kemungkinan terjadi karena struktur dari bakteri tersebut yang lebih kuat, karena memiliki struktur yang lebih kompleks yaitu terdiri dari tiga lapis yang terdiri dari lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan menghalangi masuknya bahan bioaktif antibakteri dan lapisan dalam berupa peptidoglikan yang berkisar 5-10% dengan kandungan lipid tinggi²⁵. Kadar sampel etanol tidak dapat langsung berikatan dengan peptidoglikan pada bakteri, namun harus merusak lapisan luar dahulu, sehingga akan sulit untuk menghancurkan bakteri gram negatif²⁶. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Prima 2012, bahwa ekstrak metanol pada Alga yang sama juga tidak memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli*²⁷.

Ekstrak kloroform *G. verrucosa* memiliki kemampuan lebih kuat dalam menghambat perkembangan bakteri, dibandingkan dengan ekstrak etanol 70% *Gracilaria sp.* Kuatnya kemampuan ekstrak kloroform dalam menghambat pertumbuhan bakteri kemungkinan dikarenakan zat aktif dalam *G. verrucosa* yang terikat lebih banyak yaitu alkaloid, flavonoid, dan steroid, dibandingkan dengan zat aktif pada ekstrak etanol 70% yaitu hanya steroid sesuai dengan tabel 2. Diketahui bahwa kerja flavonoid yaitu bekerja dengan menghambat bakteri melalui cara mengendapkan protein dari bakteri, selain itu flavonoid juga memiliki kemampuan melisis dinding bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma dan merusak metabolit penting dari

bakteri tersebut ²². Dari hasil uji statistik ZOI, bahwa ekstrak kloroform pada bakteri *S.aureus* mempunyai nilai signifikan pada setiap konsentrasi terhadap kontrol dan masing-masing konsentrasi.

Data konsentrasi bunuh minimum (KBM)

Pada tabel 3. Ekstrak kloroform dan etanol 70% *G. verrucosa* berpengaruh terhadap bakteri *S.aureus*. Ekstrak kloroform dan etanol 70% *G. verrucosa*, tidak mempunyai aktivitas dalam menghambat bakteri *E.coli*. Ditandai dengan tumbuhnya bakteri *E.coli* pada media agar dengan konsentrasi paling tinggi yaitu konsentrasi 100%. Tidak adanya kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*, kemungkinan disebabkan oleh rendahnya kandungan zat aktif yang terikat dalam kedua ekstrak tersebut. Sehingga ekstrak tersebut tidak mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* (gram negatif). Penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Prima (2012) pada bakteri *E.coli* dengan ekstrak metanol *G. verrucosa* tidak memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri ²⁷.

KESIMPULAN

1. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% adalah terpenoid, dan ekstrak kloroform adalah flavonoid dan terpenoid.
2. Ekstrak kloroform memiliki kemampuan daya hambat bakteri lebih kuat dibanding etanol 70%.
3. Ekstrak *G. verrucosa* pada bakteri positif memiliki kemampuan bakteristatik dan bakteriosidal lebih kuat, dibandingkan pada bakteri negatif.

SARAN

1. Melakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan pelarut selain kloroform dan etanol 70% untuk mengetahui pelarut lain yang lebih kuat dalam mengikat metabolit sekunder pada *G. verrucosa*.
2. Melakukan kombinasi antara ekstrak *Glacillaria sp* dengan berbagai macam antibiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kemenkes RI., Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor.2406/ MENKES/PER/XII/2011. <http://jdih.pom.go.id/showpdf.php?u=cTcpl0eStSVtImXC7Av%2BxK5RLEij8it%2Fhu%2FnLT03HCOs%3D>
2. Maftuch, Toban, M.H., Risjani, Y., Administration of marine algae (*Gracilaria verrucosa*) immunostimulant enhances

some innate immune parameters in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricus) against *Vibrio harveyi* infection. *J. Appl. Sci. Res.* 8 (2), 1052–1058. 2012

3. Al-Saif, S.S.A., Abdel-Raouf, N., El-Wazanani, H.A., Aref, I.A., Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, *Saudi Arabia. Saudi J. Biol. Sci.* 21, 57– 64, 2014.
4. Rabia, A., Fauzi, W., Entesar, A., Fatiem, G., Mahboba, N., In vitro antibacterial activity of alkaloid extracts from green, red and brown macroalgae from western coast of Libya. *Afr. J. Biotechnol.* 12, 7086–7091, 2013.
5. Singkoh, F.M.O., Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Laut *Caulerpa racemosa* dari Perairan Pulau Nain, *jurnal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, Universitas Sam Ratulangi. 2011
6. Romadanu, Rachmawati, S.H., Lestari, S.D., Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*), *jurnal Program Studi Teknologi Hasil Perikanan* Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya Ogan Ilir, 2014
7. Depkes RI, *Farmakope Herbal Indonesia*, 113-115, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 2008
8. Kurniawan, D., Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap *Candida albicans* Secara In vitro, *jurnal Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak*, 2015
9. Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., & Setiasih, E. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79, 2015
10. Yoni B.R., dan Elyani, H., Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari *Cladophora sp.* Dengan Metode Solvent Free Microwave Assisted Extraction (SFM AE). *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Islam*. Malang, 2017
11. Widya, P.L., Airlangga, M. H., & Risadiansyah, R. Frekuensi Resistensi pada *Enterococcus faecalis* Terhadap Dekokta Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dan Antibiotik Amoksisilin. *Jurnal*

- Fakultas Kedokteran Universitas Islam. Malang. 2017
12. Davis & Stout. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. *Journal Of Microbiology*. Vol 22 No 4. 1971
 13. Soemarno. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. *Jurnal Yogyakarta: Akademi Analis Kesehatan Republik Indonesia*. hal. 120. 2000
 14. Fatimah, S., Nafidah, F., Burhanudin, I., Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea* var. capitata f. alba) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Studi D3 Analis Kesehatan STIKES Guna Bangsa Yogyakarta Jl. Ring Road Utara, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55283, Vol 4, No. 2, hal 102-106, 2016
 15. Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L., Microbiology : An Introduction, 12th Edition. *Pearson Education, Inc.* San Fransisco. 2017
 16. Supiyanti W., Wulansari ED. dan Kusmita L. Uji aktivitas antioksidan dan penentuan kandungan antosianin total kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *jurnal Farmasi*. 15(2) 64-70. 2010
 17. Romadanu, Racmawati, S.H., Lestari, S.D., Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Jurnal Program Studi Teknologi Hasil Perikanan*, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya Ogan Ilir. 2014
 18. Ajizah, A., Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. *Jurnal Bioscientie*. 1(1): 31-8. 2004
 19. Farida, R., Dewa, M., Titis, N., Endrawati, T., Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 1 (7) : 10-25. 2010
 20. Sabir, A., Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Majalah Kedokteran Gigi (Dent J)* 38:135-141. 2005
 21. Siregar, A.F., Sabdono, A., Pringgenies, D., Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Micrococcus luteu*. Program Studi Ilmu Kelautan. *Jurnal Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang*. 1(2) :157-160. 2012
 22. Rosyidah, K., Nurmuhaimina, Komari, M.D.Astuti. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturim *Mangifera Casturi. Bioscientiae*, 7(2): 25-31.2010
 23. Markham, K.R., Cara Mengidentifikasi Flavonoid .*Naskah Publikasi Indonesia Medicus Veterinus*. 1(3) : 337-51. 2012
 24. Nurainy, F., Samsul, R., Yudiantoro. Penganruh Konsentrasi Kitosan terhadap Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar (sumur). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 13:117-125. 2008
 25. Mulyadi, M., Wuryanti, Ria, P.S., Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram, 1(1):35-42. 2013
 26. Prima, I.M., Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ganggang Merah (*Gracilaria verrucosa*) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Program Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negri Syarifhidayatullah Jakarta*. 2012
 27. Brooks F. Geo, Carrol C. Karen, Butel S. Janet, Morse A. Stephen, Mietzer A. Timothy. Medical Microbiology 26th Edition (1) : 13-401. *M. C. Graw Hill*. New York, 2010.