

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR ETANOL, KLOOROFORM DAN N-HEKSANA ALGA COKLAT *Sargassum vulgare* ASAL PANTAI KAPONG PAMEKASAN TERHADAP BAKTERI *Staphilococcus aureus* dan *Eschericia coli*

Alfiyaturohmah, Rachmawati Ningsih., Eriyanto Yusnawan

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

The antibacterial activity of ethanol, chloroform and *n*-hexane crude extract of brown algae *S. vulgare* from Kapong beach Pamekasan has been conducted against *S. aureus* and *E. coli*. The purpose of this research was to know the crude solvent extract showing antibacterial activities against *S. aureus* and *E. coli* and to identify active compound groups content.

The extraction of brown algae was performed by maseration ethanol, chloroform and *n*-hexane solvent. The crude extract were assayed an actibacterial activity by disk diffusion methode. The extract showing the best antibacterial activities were tested phytochemicals assay and TLC to identify active compound groups.

This result showed that chloroform crude extract of brown algae inhibited *S. aureus* in concentration of 1 % and *E. coli* in concentration of 5%. Phytochemical assay showed that chloroform crude extract was containing flavonoids and steroid groups. For the separation using TLC chloroform-methanol (99:1) yielded 9 spots with Rf 0,017–0,46 while chloroform-methanol (9:1) was generated 7 spots with Rf 0,17–0,91.

Keywords : Brown algae *S. vulgare*, antibacterial test, phytochemical test, TLC

ABSTRAK

Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar etanol, kloroform dan *n*-heksan alga coklat *S. vulgare* asal pantai Kapong Pamekasan dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Tujuan penelitian untuk mengetahui ekstrak pelarut terbaik yang mempunyai aktivitas antibakteri serta mengidentifikasi golongan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak yang berpotensi sebagai antibakteri.

Ekstraksi senyawa aktif alga coklat dilakukan dengan metode maserasi pelarut etanol, kloroform dan *n*-heksana. Ekstrak kasar diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Senyawa aktif yang dikandung diuji fitokimia dan dipisahkan golongan senyawa menggunakan KLT.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak kloroform alga coklat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 1 % dan terhadap *E. coli* pada konsentrasi 5%. Hasil uji fitokimia terdeteksi golongan senyawa flavonoid dan steroid. Pemisahan menggunakan KLT eluen kloroform-metanol (99:1) menghasilkan 9 spot dengan nilai Rf 0,017–0,46. Eluen kloroform-metanol (9:1) menghasilkan 7 spot dengan nilai Rf 0,17–0,91.

Kata Kunci: Alga coklat *S. vulgare*, aktivitas antibakteri, Uji fitokimia, KLT

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia. Secara fisik, Indonesia mempunyai panjang garis pantai mencapai 81.000 Km² dengan jumlah pulau mencapai lebih dari 17.500 pulau. Luas daratan 1,9 juta Km² sementara luas perairan 3,1 juta Km² (Yudanto, 2010). Perbandingan luas wilayah lautan dan daratan berbanding 3:1, sehingga hampir 70 % wilayah Indonesia terdiri atas lautan yang memiliki sumber daya alam laut yang melimpah dan beragam baik hayati maupun non hayati.

Allah telah menciptakan laut dengan berbagai biota laut yang ada di dalamnya. Manusia bisa mengambil dan memanfaatkannya untuk kelangsungan hidupnya agar mereka senantiasa bersyukur atas nikmat-Nya yang tersirat dalam surat an Nahl ayat 14, yang artinya.

“Dan Dia-lah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya,

dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur”.

Salah satu karunia Allah SWT dan merupakan sumber daya hayati kelautan yang melimpah di Indonesia adalah alga. Kemelimpahan alga dapat diketahui dengan jumlah jenis alga yang sudah ditemukan. Di Indonesia, alga merah terdiri dari 452 jenis, alga coklat 196 jenis dan alga coklat 134 jenis (Moosa, 1999).

Alga coklat mengandung senyawa bioaktif seperti Fucoxantin (Ibanez dkk., 2012), steroid (Ayyad dkk., 2003), phlorotannin (Koivikko, 2008; Ibanez dkk., 2012), flavonoid (Cox dkk., 2010) dan saponin (Anandhan dkk., 2011). Senyawa bioaktif yang dikandung alga merupakan potensi yang sangat bermanfaat bagi pengembangan bidang farmasi, misalnya sebagai senyawa obat seperti antibakteri (Bactiar, 2007).

Senyawa antibakteri merupakan suatu senyawa yang dapat mencegah terjadinya pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Salah satu cara untuk mengetahui aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan pengamatan zona hambat. Cristobel dkk. (2011) melakukan uji aktivitas antibakteri alga coklat *S.wightii*, *Padina tetrastromatica* dan *Dictyota dichotoma* dengan konsentrasi 0,1 %, 1 % dan 10 % terhadap bakteri *S. aureus*, *Streptococcus sp.*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* dan *E. coli*. Ekstrak etanol dan kloroform alga coklat jenis *P. gymnospora* dan *S. tenerrium* berturut-turut dihasilkan zona hambat sebesar 11,3 mm dan 13,7 mm pada *E. coli* dan 12,0 mm serta 20,3 mm pada *S. aureus* (Mannifannan dkk., 2011). Ekstrak *n*-heksana *S. cristaeofolium* menghasilkan zona hambat 8,2 mm pada *E. coli* (Rohmah dkk., 2011).

Alga coklat jenis *S. vulgare* merupakan alga coklat yang satu marga dengan *T. conoides*, *P. gymnospora*, *S.*

tenerrium dan lain-lain. Alga-alga tersebut sudah diteliti daya aktivitas antibakterinya terhadap *S.aureus* dan *E.coli* yang bersifat patogen, sehingga dapat diduga bahwa *S. vulgare* juga mempunyai potensi sebagai antibakteri.

Menurut Asmad (2012), penduduk dan nelayan pantai Kapong Kabupaten Pamekasan, keberadaan *S. vulgare* di pantai tersebut melimpah. Kemelimpahan alga ini dibiarkan begitu saja kecuali dijual hanya jika ada yang pesan. Berdasarkan informasi tersebut alga coklat perlu ditingkatkan potensinya dengan cara diteliti guna mengetahui kandungan senyawa aktif khususnya yang berpotensi sebagai senyawa obat.

Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan suatu penelitian untuk mendapatkan dasar teoritis dan bukti-bukti ilmiah kepada masyarakat tentang penggunaan alga coklat sebagai senyawa obat khususnya antibakteri. Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas ekstrak kasar etanol, kloroform dan *n*-heksana alga coklat sebagai senyawa aktif antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

II. PELAKSANAAN PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UIN Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Juni 2012 sampai September 2012.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan antara lain: timbangan analitik, *Salinometer Atago PAL-06S*, oven, desikator, seperangkat alat gelas, *shaker*, kertas saring, corong Buchner, *rotary evaporator*, pipet, botol *vial*, cawan petri, *Laminar Air Flow*, inkubator, mikropipet, kawat ose, bunsen, mistar, plastik tahan panas, aluminium foil, karet, autoklaf, tabung reaksi, rak tabung, plat tetes, pipa kapiler dan lampu UV.

Bahan utama yang digunakan alga coklat *S. vulgare*, aquades, etanol, kloroform, *n*-heksana, asam sulfat, reagen Dragendorf, reagen Mayer, reagen

Lieberman-Burchard, serbuk magnesium, asam klorida, besi (III) klorida, asam asetat anhidrat, larutan *Tween*, kertas saring, ampicilin, streptomisin, alkohol 80 %, plat KLT GF₂₅₄, kertas Watman, kapas, wrap, *Nutrien Agar* (NA) (*Criterion America*), *Nutrirnt Broth* (NB) (*Criterion America*) dan biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

PROSEDUR PENELITIAN

Preparasi Sampel

Alga dicuci dengan air dan dibilas berulang-ulang sampai bersih. Dikeringanginkan selama 7 hari (Reskika, 2010). Dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan ukuran 60-100 mesh.

Analisa Kadar Air

Sebanyak 5 gram serbuk sampel pada cawan konstan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C sekitar 15 menit. Cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit selanjutnya ditimbang. Dilakukan pengulangan sampai deperoleh berat konstan. Rumus kadar air (AOAC 1984):

$$\% \text{ Kadar air} : \frac{b-c}{b-a} \times 100 \%$$

Ket: a = berat konstan cawan kosong

b = a + sampel sebelum kering

c = a + sampel kering

Analisa Kadar Garam

Sebanyak 5 gram serbuk alga coklat ditimbang kemudian dilarutkan aquades panas 10 mL, diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dan ditunggu ± 30 menit sehingga semua garam (NaCl) larut (Sudarmadji, dkk., 2007). Ekstrak disaring dengan corong Buchner setelah itu uji kadar garam menggunakan *Salinometer Atago PAL-06S*.

Ekstraksi

Maserasi sebanyak 100 gram serbuk sampel kedalam masing-masing 1000 mL pelarut etanol, kloroform, dan *n*-heksana selama 24 jam pada suhu ruang. *Shaker* 3 jam dan disaring menggunakan corong Buchner. Filtrat dipeketkan dengan *rotary evaporator*.

Pengujian Antibakteri

Pengujian dengan metode difusi cakram. Kertas cakram 5 mm diresapkan pada masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 10%, 7,5%, 5%, 2,5%, 1% dan 0,5%. Pelarut ekstrak digunakan akuades dengan sedikit *tween*. Kertas cakram yang mengandung ekstrak diletakkan diatas permukaan media agar padat yang telah dihomogenkan dengan 50 µL bakteri biakan aktif (OD 0,3). Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C.

Uji Fitokimia

Ekstrak pelarut yang positif menunjukkan aktivitas antibakteri diuji fitokimia dengan uji reagen.

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak alga coklat dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1–2 mL metanol 50 %. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4–5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Hayati, 2010).

Uji Tanin dengan FeCl₃

Sebanyak 1 mL ekstrak alga coklat ditambahkan dengan 2–3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Jika dihasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua pada larutan maka menunjukkan adanya tanin (Hayati, 2010).

Uji Tanin dengan Larutan Gelatin

Sebanyak 1 mL ekstrak alga coklat dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin (Hayati, 2010).

Uji Alkaloid

Ekstrak alga coklat sebanyak 3 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 mL HCl 1%. Larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung 1 ditambah 2–3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambah 2–3 tetes reagen Mayer. Jika tabung 1 terbentuk endapan jingga dan tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid (Hayati, 2010).

Uji Saponin

Ekstrak alga coklat dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1N sebanyak 1–2 tetes, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1–3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Hayati, 2010).

Uji Steroid/ Triterpenoid

Ekstrak alga coklat sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1–2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Hayati, 2010).

Pemisahan Senyawa Aktif

Ekstrak pelarut yang positif uji fitokimia dipisahkan golongan senyawanya menggunakan KLT Silika GF₂₅₄.

Analisa data

Data aktivitas antibakteri dianalisis ragam uji ANOVA satu arah untuk menguji adanya pengaruh atau perbedaan antar perlakuan variasi konsentrasi ekstrak alga coklat terhadap pertumbuhan bakteri. Apabila terdapat pengaruh atau perbedaan antar perlakuan, diuji lanjut uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tingkat signifikansi 5% untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau berbeda nyata di antara perlakuan yang lain.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN**Preparasi Sampel**

Pencucian sampel dilakukan agar kotoran pada alga hilang. Pengeringan dengan proses kering-angin untuk menghindari rusaknya senyawa aktif pada sampel yang tidak tahan terhadap panas. Pengeringan untuk mengurangi kadar air, mencegah terjadinya reaksi enzimatik dan tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan

dalam jangka waktu yang lebih lama. Hasil dari pengeringan berupa alga kering dan berwarna hitam dengan rendemen 13,80%. Besarnya kadar air yang diperoleh hampir sama dengan *S. prismatikum* proses kering-angin yang diteliti oleh Reskika (2011) yang besarnya 12,36%. Pada proses pengeringan yang sama, penelitian Putri (2010) menginformasikan bahwa kadar air *Sargassum* sp. sebesar 14,90%. Perbedaan kadar air dapat disebabkan oleh perbedaan tempat dan waktu pengeringan.

Penghalusan untuk memperluas permukaan sampel, sehingga kontak antara sampel dengan pelarut semakin besar pada saat ekstraksi. Serbuk sampel yang dihasilkan berwarna coklat kehitaman dan berbau menyengat (gurih).

Analisa Kadar Air

Hasil kadar air serbuk alga coklat melalui proses pemanasan menggunakan oven sebesar 11,80%, dengan proses yang sama kadar yang dihasilkan hampir sama dengan kadar air *Sargassum* sp yang diteliti oleh Putri (2010) yang besarnya 12,32%. Kadar air mempunyai peranan penting dalam menentukan daya awet suatu bahan (Buckle, 2006). Menurut Winarno (2004), apabila kandungan air bahan berkisar 12-25 % kira-kira setara dengan a_w 0,8. Aktivitas air (*water activity* = a_w) merupakan jumlah air di dalam bahan yang tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme. Penghambatan mikroba secara total akan terjadi pada a_w bahan < 0,6 setara dengan kadar air < 7%. Kadar air *S. vulgare* masih tergolong tinggi karena % kadar air lebih besar dari 7% sehingga pertumbuhan mikroba cenderung dapat terjadi, untuk mengantisipasi hal tersebut penyimpanan sampel serbuk kering pada lemari pendingin.

Analisa Kadar Garam

Hasil kadar garam yang diperoleh sebesar 0,74%. Menurut Buckle dkk. (2010), garam berperan sebagai penghambat selektif pada proteolitik (mikroorganisme pembusuk) dan pembentukan spora meskipun dengan kadar rendah 6%. *S. aureus* akan dihambat

pertumbuhannya pada konsentrasi garam 15–20% sedangkan *E. coli* pada 13%. Kadar garam alga coklat tergolong sangat rendah sehingga pada saat proses uji aktivitas antibakteri cenderung tidak memiliki pengaruh penghambatan bakteri uji. Terhambatnya pertumbuhan bakteri uji cenderung murni dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak alga coklat.

Ekstraksi

Presentase ekstrak kasar alga coklat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil presentase ekstrak kasar alga coklat

Ekstrak	Ekstrak kasar (g)	Ekstrak kasar (%)
Etanol	1,76	1,76
Kloroform	1,60	1,60
<i>n</i> -heksana	0,50	0,50

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kasar alga coklat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan 3 kali pengulangan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar alga coklat terhadap bakteri *S. aureus*

Konsentrasi	Zona hambat (mm)		
	Ekstrak etanol	Ekstrak kloroform	Ekstrak <i>n</i> -heksana
10 %	-	-	-
7,5 %	-	-	-
5 %	-	1,0000 ^c	-
2,5 %	-	1,6667 ^{bc}	-
1 %	-	1,8883 ^b	-
0,5 %	-	0,5000 ^{cd}	-
Ampisilin (0,4 mg/mL)	13,0000	13,0000 ^a	13,0000
Kontrol aquades	-	-	-
Kontrol pelarut organik	-	-	-
TPC (CFU/mL)	1,8x10 ⁸	2,5x10 ⁸	2,5x10 ⁸

Ekstrak kloroform alga coklat menunjukkan aktivitas antibakteri sedangkan ekstrak etanol dan *n*-heksana sebaliknya, hal tersebut dimungkinkan

karena senyawa aktif antibakteri cenderung terdistribusi pada pelarut semipolar. Aktivitas antibakteri pada ekstrak semipolar juga ditunjukkan pada penelitian Borbon dkk. (2012), yakni mengekstrak alga coklat *S. policeratum* dan *Dictyota mertensii* dengan pelarut etanol (polar) dan aseton (semipolar). Ekstrak aseton kedua alga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* sedangkan ekstrak etanol sebaliknya. Ekstrak *n*-heksana alga coklat *Turbinaria conoides* tidak menunjukkan aktivitas antibakteri pada *S. aureus* (Shanmugam dkk., 2010) kemudian ekstrak *S. abbotiae* dan *S. bataanense* pada *E. coli* (Shidarta dkk., 2008).

Tabel 3 Aktivitas antibakteri ekstrak kasar alga coklat terhadap bakteri *E. coli*

Konsentrasi	Zona hambat (mm)		
	Ekstra k etanol	Ekstrak kloroform	Ekstrak <i>n</i> -heksana
10 %	-	1,6667 ^b	-
7,5 %	-	0,6667 ^{bc}	-
5 %	-	0,6667 ^{bc}	-
2,5 %	-	-	-
1 %	-	-	-
0,5 %	-	-	-
Streptomisin (0,625 mg/mL)	22,1667	22,1667 ^a	22,1667
Kontrol aquades	-	-	-
Kontrol pelarut organik	-	-	-
TPC (CFU/mL)	2,7x10 ⁸	4,2x10 ⁸	4,2x10 ⁸

Ekstrak kasar kloroform alga coklat menunjukkan aktivitas antibakteri yang cenderung lemah dibandingkan senyawa obat komersil (ampisilin dan streptomisin), karena zona hambat yang dihasilkan < 5 mm. Efektivitas antibakteri yang lebih baik ditunjukkan pada konsentrasi 1 % terhadap *S. aureus* sedangkan terhadap *E. coli* pada konsentrasi 5 %. Penentuan konsentrasi terbaik pertama-tama melihat perlakuan konsentrasi yang nilai rata-ratanya

tertinggi. Setelah itu melihat apakah nilai tertinggi tersebut diikuti oleh huruf yang sama atau tidak. Jika diikuti huruf yang sama, dibandingkan antara konsentrasi dosis tinggi dan dosis rendah. Perlakuan dosis rendah lebih baik dari pada dosis tinggi jika direkomendasikan sebagai senyawa obat, hal tersebut untuk menghindari resistensi bakteri akibat pemberian antibakteri secara berlebihan.

Pada umumnya semakin besar konsentrasi senyawa obat antibakteri menghasilkan zona hambat yang semakin besar pula. Konsentrasi ekstrak kloroform alga coklat terhadap bakteri *S. aureus* menunjukkan sebaliknya. Hal yang sama terjadi pada penelitian Cristobel dkk. (2011) yang menguji ekstrak kasar *S. wightii*, *ulva fasciata* (alga hijau) dan *Gracilaria corticata* (alga merah) terhadap bakteri Gram positif (*Micrococcus luteus*) dengan konsentrasi 0,1%; 1%; 10% 50% dan 100%. Pada konsentrasi 50% dan 100% tidak menghasilkan zona hambat.

Uji Fitokimia

Flavonoid dan steroid dapat berfungsi sebagai antibakteri karena dapat merusak dinding sel bakteri (Abad dkk., 2011), mengganggu permeabilitas membran sel, proses sintesis protein dan DNA (Volk and Wheller, 1993). Aktivitas antibakteri senyawa flavonoid terdapat pada gugus hidroksil bebas pada cincin A, C₅ dan C₇ (Saleem dkk., 2010). Selain itu pada gugus hidroksil pada cincin B, 3',4',5'-trihydroxyflavonoids (Bylka dkk., 2010). Sifat antibakteri senyawa steroid terdapat pada gugus hidroksil 3-β OH (Saleem dkk., 2010).

Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT

Pemisahan golongan senyawa aktif flavonoid menggunakan larutan pengembang campuran kloroform-metanol (9: 1) yang merujuk penelitian Marimuthu dkk. (2012), yakni memisahkan senyawa aktif alga *S. wightii* yang mengandung senyawa fenol dan flavonoid. Hasil

pemisahan golongan senyawa aktif flavonoid alga coklat pada Tabel 5.

Tabel 4 Hasil uji fitokimia ekstrak kasar kloroform alga coklat

Uji	Ekstrak Alga coklat	Warna	Standar warna
Flavonoid	+	Hijau	Merah/jingga/hijau
Tanin			
FeCl ₃	-	Coklat kekuningan	Hijau kehitaman/biru tua
Gelatin	-	Tidak ada endapan	Endapan putih
Alkaloid			
▪ Dragen drof	-	Endapan merah muda	Endapan kekuning-kuningan
▪ Mayer	-	Tidak ada endapan	Endapan jingga
Saponin	-	Tidak terbentuk busa	Terbentuk busa
Steroid	+	Biru kehijauan	Biru kehijauan
Triterpenoid	-	Biru kehijauan	Terbentuk cincin kecoklatan

Ket: Tanda + : terkandung senyawa

Tanda - : tidak terkandung senyawa

Warna noda pada nomor 7 dan 3 berwarna hijau biru dan kuning orange, setelah diuapi amoniak dan dilihat pada sinar UV₃₃₆ berwarna jingga/ orange dan coklat hitam. perubahan warna yang dihasilkan cenderung sama seperti yang diteliti Fahri (2010) yang memisahkan senyawa flavonoid pada alga *S. cristaefolium*. Menurut Harborne (2006), senyawa flavonoid yang diuapi amonik menghasilkan warna biru, coklat muda/lemah, coklat tua, coklat hitam, merah muda, merah tua, jingga, kuning dan hijau kuning. Berdasarkan warna tersebut, ekstrak kloroform *S. vulgare* yang diduga

mengandung flavonoid berwarna merah muda, coklat muda, biru dan jingga, yakni noda pada nomor 1, 3, 6 dan 7.

Tabel 5 Hasil pemisahan golongan senyawa aktif flavonoid ekstrak kloroform alga coklat menggunakan KLT

No No da	Rf (cm)	Warna noda tampak	Warna noda	
			dibawah sinar UV ₃₆₆	
			Sebelum diuapi amoniak	Setelah diuapi amoniak
1	0,17	Kuning pudar	Merah muda	Merah muda
2	0,41	Kuning	Merah muda	Merah ungu
3	0,47	Orange kuning	Coklat hitam	Coklat muda
4	0,53	Tak berwarna	Merah muda	Merah ungu
5	0,80	Tak berwarna	Merah muda	Biru
6	0,84	Tak berwarna	Merah muda	Coklat
7	0,91	Hijau biru	Jinga terang	Jingga

KLT Senyawa Steroid

Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid alga coklat pada Tabel 6.

Pemisahan golongan senyawa aktif steroid menggunakan larutan pengembang campuran kloroform-metanol (99: 1) yang merujuk penelitian Kamenarska dkk. (2003), yang memisahkan senyawa steroid pada alga coklat *Stilophora rhizodes*, *Punctaria latifolia* dan *P. plantaginea*.

Pemisahan senyawa steroid menghasilkan 9 noda. Noda pada KLT terpisah berdasarkan tingkat kepolarannya. Noda dengan Rf terkecil yaitu 0,017 diduga cenderung bersifat polar dikarenakan noda tersebut lebih terdistribusi ke fase diam yang bersifat polar. Noda dengan Rf tertinggi 0,46 cenderung terdistribusi ke dalam fase gerak yang kepolarannya lebih kecil dibandingkan dengan fase diamnya.

Kristanti (2008) melaporkan bahwa senyawa steroid setelah disemprot pereaksi Liberman-Burchard pada plat KLT menghasilkan warna biru. Hasil KLT pemisahan senyawa steroid pada *S. vulgare* cenderung berwarna biru yang ditunjukkan pada noda nomor 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8.

Tabel 6 Hasil pemisahan golongan senyawa aktif steroid ekstrak kloroform alga coklat menggunakan KLT

No No da	Rf (cm)	Warna noda tampak	Warna noda		
			sinar UV ₂₅₆	sinar UV ₃₆₆	
				- Pereaksi L-B	+ Pereaksi L-B
1	0,017	Kuning muda	Tak berwarna	Merah	Biru
2	0,05	Kuning muda	Hijau pudar	Merah	Biru
3	0,07	Kuning	Hijau tua	Hijau kecoklatan	Biru
4	0,13	Tak berwarna	Tak berwarna	Merah muda	Biru
5	0,21	Tak berwarna	Tak berwarna	Merah muda	Biru
6	0,26	Tak berwarna	Tak berwarna	Merah muda	Biru
7	0,30	Tak berwarna	Tak berwarna	Merah muda	Biru
8	0,34	Takber warna	Tak berwarna	Merah muda	Biru
9	0,46	Hijau kebiruan	Hijau muda	Merah kecoklatan	Biru – merah

IV. PENUTUP

Kesimpulan

Ekstrak alga coklat yang mempunyai aktivitas antibakteri terbaik adalah ekstrak kloroform pada konsentrasi 1% terhadap *S. aureus* dan 5% terhadap *E. coli*. Golongan senyawa yang diduga pada ekstrak kloroform alga coklat adalah flavonoid dan steroid

Saran

Perlu menambah variasi konsentrasi untuk mengetahui efisiensi konsentrasi ekstrak. Ekstraksi menggunakan variasi pelarut organik lain perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak pelarut sebagai antibakteri. Hidrolisis terhadap ekstrak pekat yang didapat juga perlu dilakukan terkait senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri dan identifikasi senyawa aktif menggunakan instrumen perlu dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang dikandung alga coklat.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Abad, M. J., Bedoya, L. M. and Bermejo P. 2011. *Marine Compounds and their Antimicrobial Activities*. Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Avda. Complutense s/n, 28040, Madrid, Spain.
- Anandhan, S. and Sorna K.H. Biorestraining potentials of marine macroalgae collected from Rameshwaram, Tamil nadu. *Journal research Biology, An International Open Access Online Research Journal*. 385-392. JRB. 2011 Vol 1. No 5
- Asmad.2012.Wawancaracomunikasi. *Kelimpahan alga coklat jenis Sargassum vulgare di Pantai Kapong Kabupaten Pamekasan*. 17 Maret 2012
- Ayyad, S.N., Sowellim, S.Z.A., El-Hosini, M.S. and Abo-Atia, A. The Structural Determination of a New Steroidal Metabolite from the Brown Alga *Sargassum asperifolium*. *Journal Department of Chemistry Damietta Faculty of Science, Mansoura University*. 0939D5075/2003/0500D0333.2003
- Bachtiar, E. 2007. *Penelusuran Sumber Daya hayati (Alga) Sebagai Biotarget Industri*. Universitas Padjadjaran. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jatitagor
- Bucle, K.A, Edwards, R.A, Fleet, G.H, Wootton, penerjemah: Adiono H.P. 2010. *Ilmu Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Bylka, W., Matlawska, I., Pilewski, N.A. Natural flavonoid as Antimicrobial Agents. *Review Article Department of Pharmacognosy, K. Marcinkowski University of Medicinal Sciences 10 Sieroca, 61-771 Poznan, Poland. JANA Vol. 7, No. 2, 2004*
- Borbon, H. *et al.*, 2012. Antimicrobial Activity of Most Abundant Marine Macroalgae of the Caribbean Coast of Costa Rica. *Journal of Asian Scientific Research*, Vol. 2, No. 5, pp. 292-299
- Christobel, G.J., Lipton, A.P., Aishwarya, M.S., Sarika, A.R. and Udayakumar, A. Antibacterial activity of aqueous extract from selected macroalgae of southwest coast of India. *Seaweed Res. Utiln.*, 33 (1&2) : 67 - 75, 2011
- Cox, S., Abu-Ghannam, N and Gupta, S. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal* 17: 205-220 (2010)
- Fahri, M., Risjani, Y. dan Sasangka P. 2010. Isolation and Identification of Flavonoids Compounds and Toxicity Test Of Methanolextract From Brown Algae (*Sargassum cristaefolium*). Malang: UB
- Hayati, E. K dan Halimah, N. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethally Test Against *Artemia salina* Leach Anting-anting (*Achalypha indica* Linn.) Plant Ekstract. *ALCHEMY* Vol. No. 2Maret 2010, hal 53-103
- Ibañez, E., Herrero, M., Mendiola, J.A. and Castro-Puyana, M. Chapter 2 Extraction and Characterization of Bioactive Compounds with Health Benefits from Marine Resources: Macro and Micro Algae, Cyanobacteria, and Invertebrates. DOI 10.1007/978-1-4614-1247-2_2, *Springer Science Business Media*, LLC 2012
- Kamenarska, Z.G. *et al.*, A comparative study on the sterol composition of some brown algae from the Black Sea. *Original scientific paper Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences*,

- Sofia 1113, Bulgaria. *J.Serb.Chem.Soc.* 68(4-5)269-275(2003)
- Koivikko, R. 2008. *Brown Alga Phlorotannins Improving and Applying Chemical Methods.* Department of Chemistry University of Turkey Finland
- Kristanti, A.V, Aminah, N.S, Tanjung, M., Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia.* Airlangga University Press. Surabaya
- Manivannan, K., Karthikai devi, G., Anantharaman,P., Balasubramanian,T. Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2011)114-120
- Marimuthu J. *et al.* Phytochemical characterization of brown seaweed *Sargassum wightii*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* (2012)S109-S113
- Moosa, M.K. Sumberdaya laut nusantara, keanekaragamanhayati laut dan pelestariannya. Loka karya Keanekaragaman Hayati Laut. Pemanfaatan secara lestari dilandasi penelitian dan penyelamatan. *Widy Graha LIPI*, Jakarta 23 Pebruari 1999
- Putri, H.K. 2011. Pemanfaatan Rumput Laut Coklat (*Sargassum* sp.) sebagai Serbuk Minuman Pelangsing Tubuh.DepartemenTeknologi HasilPerairanFakultas PerikananDan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor Bogor
- Reskika, A. 2011. Skripsi *Evaluasi Potensi Rumput Laut Coklat (Phaeophyceae) dan Rumput Laut Hijau (Chlorophyceae) Asal Perairan Takalar Sebagai Antibakteri Vibrio spp.* Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin Makassar
- Rohmah W. B., Budi, S.B. dan Kartika, N.H.2001. *Daya AntibakteriEkstrak Sargassum Crystaefolium dengan Berbagai Pelarut Terhadap Eschericia coli dan Vibrio haemoliticus.* Malang: Fakultas Perikanan dan Ilmu KelautanUniversitas Brawijaya
- Rohmah W. B., Budi, S.B. dan Kartika, N.H.2001. *Daya Antibakteri Ekstrak Sargassum Crystaefolium dengan Berbagai Pelarut Terhadap Eschericia coli dan Vibrio haemoliticus.* Malang: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
- Saleem, M., Nazir, M., Ali, M.S., Hussain, H., Lee, Y.S., Riaza, N. and Jabbara,A. Antimicrobial Natural Products: an Update on Future Antibiotic Drug Candidates. DOI: 10.1039/b916096e. *First published as an Advance Article on the web* 25th November 2009
- Shanmugam, S.K., Kumar, Y., Yar, K.M.S., Gupta, V. and De Clercq, E. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Turbinaria conoides* (J.Agardh) Kuetz. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* (2010), 9 (4): 411-416
- Sidharta B.R., Atmodjo, P.K. dan E. Mursyanti. Skrining Senyawa Antibakteri dari Beberapa Jenis Rumput Laut Coklat (Phaeophyceae) dari Pantai Drini, Daerah Istimewa Yogyakarta. *Biota Vol. 13* (1): 1-7, Februari 2008 ISSN 0853-8670
- Sudarmadji, S.B., Haryono, dan Suhardi. 2007. *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian.* Yogyakarta: Liberty.
- Volk.W.A dan Wheeler M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar.* Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama.

Winarno, F.G. 2004. *Kimia Bahan Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Yudanto, H.A. 2001. *Wilayah Perairan Indonesia*. Kompas.com. diakses 21 September 2011.