

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN  
ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL  
RUMPUT LAUT (*Sargassum duplicatum* J.Agardh)  
SERTA POTENSINYA SEBAGAI ALTERNATIF  
PENGAWET ALAMI PADA TELUR ASIN**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Sebagai Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Pendidikan  
dalam Ilmu Pendidikan Kimia



Oleh:  
**SATRIA BAGUS FIRMANSYAH**  
NIM: 113711015

**FAKULTAS ILMU TARBIYAH DAN KEGURUAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO  
SEMARANG  
2015**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Satria Bagus Firmansyah

NIM : 113711015

Jurusan : Pendidikan Kimia

Progam Studi : Pendidikan Kimia

menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK  
METANOL RUMPUT LAUT (*Sargassum duplicatum* J.Agardh)  
SERTA POTENSINYA SEBAGAI ALTERNATIF PENGAWET  
ALAMI PADA TELUR ASIN**

secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 30 Juni 2015  
Pembuat Pernyataan,



**Satria Bagus Firmansyah**  
NIM. 113711015



**KEMENTERIAN AGAMA R.I.**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO**  
**FAKULTAS ILMU TARBIYAH DAN KEGURUAN**

Jl. Prof. Dr. Hamka (Kampus II) Ngaliyan Semarang  
Telp. 024-7601295 Fax. 7615387

**PENGESAHAN**

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J.Agardh) serta Potensinya sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Telur Asin**

Penulis : Satria Bagus Firmansyah

NIM : 113711015

Jurusan : Pendidikan Kimia

telah diujikan dalam Sidang *Munaqasyah* oleh Dewan Penguji Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam Ilmu Pendidikan Kimia.

Semarang, 13 Juli 2015

**DEWAN PENGUJI**

Ketua,

**Dr. Hamdan Hadi Kusuma, M.Sc**

NIP. 19770320 200912 1 002

Penguji I

**Dina Sugiyanti, M.Si**

NIP. 19840829 201101 2 005

Pembimbing I

**Arizal Firmansyah, M.Si**

NIP. 19790819 200912 1 001

Sekretaris,

**Mulyatun, M.Si**

NIP. 19880304 201101 2 008

Penguji II

**Dian Ayuning Tyas, M.Biotech**

NIP. 19841218 201101 2 004

Pembimbing II

**Nur Hayati, S.Pd., M.Si**

NIP. 19771125 200912 2 001



## NOTA DINAS

Semarang, 30 Juni 2015

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan  
UIN Walisongo  
di Semarang

*Assalamu 'alaikum wr.wb.*

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J.Agardh) serta Potensinya sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Telur Asin**  
Nama : Satria Bagus Firmansyah  
NIM : 113711015  
Jurusan : Pendidikan Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang *Munaqasyah*.

*Wassalamu 'alaikum wr.wb.*

Pembimbing I,



**Arizal Firmansyah, M.Si**  
NIP. 19790819 200912 1 001

**NOTA DINAS**

Semarang, 30 Juni 2015

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan  
UIN Walisongo  
di Semarang

*Assalamu 'alaikum wr.wb.*

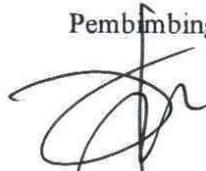
Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J.Agardh) serta Potensinya sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Telur Asin**  
Nama : Satria Bagus Firmansyah  
NIM : 113711015  
Jurusan : Pendidikan Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang *Munaqasyah*.

*Wassalamu 'alaikum wr.wb.*

Pembimbing II,



**Nur Hayati, S.Pd., M.Si**

NIP. 19771125 200912 2 001

## ABSTRAK

Judul : **Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) serta Potensinya sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Pembuatan Telur Asin**

Penulis : Satria Bagus Firmansyah

NIM : 113711015

Penelitian aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak metanol rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh serta potensinya sebagai alternatif pengawet alami pada telur asin telah dilakukan. Ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh diuji kandungan fitokimianya dan kandungan total fenolatnya dengan variasi pemanasan.

Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh diperoleh melalui proses ekstraksi maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak kasar yang diperoleh sebanyak 9,46 gram dengan rendemen sebesar 6,3%. Ekstrak dibagi menjadi dua, yaitu sampel R.1 dan sampel R.2. Sampel R.1 merupakan sampel tanpa perlakuan dan sampel R.2 merupakan sampel dengan perlakuan pemanasan selama 45 menit di waterbath hingga suhu 100 °C.

Senyawa fitokimia yang terkandung pada rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh adalah flavonoid dan steroid. Kandungan total fenolat pada sampel R.1 lebih besar dengan nilai 9168 (mg GAE/100 g ekstrak) dibandingkan pada sampel R.2 dengan total fenolat 7016 (mg GAE/100 g ekstrak). Komponen fitokimia dan total fenol memiliki korelasi positif terhadap aktivitas antioksidan. Pengujian antioksidan dengan metode DPPH menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 143,03  $\mu\text{g/mL}$  pada sampel R.1, sedangkan pada sampel R.2 menghasilkan 357,95  $\mu\text{g/mL}$ .

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar melalui medium SSA (*Salmonella-Shigella* Agar). Nilai daya hambat pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella* yaitu sebesar 1,120 mm dan 1,15 mm dengan kontrol Kloramfenikol. Bakteri *Salmonella sp.* merupakan bakteri patogen yang biasanya ada pada telur dan menyebabkan terjadinya pembusukan pada telur. Penjelasan mengenai hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak

rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh ini mengarahkan untuk diaplikasikan ke arah metode pengawetan bahan pangan, yaitu telur asin. Salah satu yang menjadi fokus utama ialah sifat antibakteri yang dimiliki ekstrak metanol rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri penyebab pembusukan pada telur asin yaitu, *Salmonella sp.*

Kata kunci : Aktivitas antibakteri, antioksidan, *Salmonella sp.*, telur asin

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim*

*Assalamu'alaikum Wr. Wb*

Alhamdulillah segala puji bagi Allah Rabb semesta alam yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J.Agardh serta Potensinya sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Telur Asin". Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Rasulullah Muhammad SAW, beserta para keluarga, sahabat, dan para pengikutnya yang senantiasa istiqomah dalam sunnahnya hingga akhir zaman.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu (S1) Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa begitu banyak pihak yang telah turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Melalui kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Darmu'in, M.Ag, selaku dekan Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Walisongo Semarang
2. Arizal Firmansyah, M.Si dan Nur Hayati, S.Pd., M.Si, selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis selama penyusunan skripsi ini.

3. Bapak Suhadi dan Ibu Sri Utami, terima kasih yang tak terhingga untuk orang tuaku atas doa, semangat, kasih sayang, pengorbanan, dan ketulusannya dalam mendampingi penulis. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan ridho-Nya kepada keduanya.
4. Teman-teman Tadris Kimia 2011, terima kasih untuk kebersamaannya selama ini dalam perjuangan kita menggapai impian sebagai seorang pendidik kimia. Apa yang terjadi selama 4 tahun ini akan selalu menjadi kenangan dan pengalaman yang dikenang.
5. Saudara-saudari seperjuangan di berbagai kepanitiaan maupun organisasi, khususnya kepada sedulur-sedulur di KPMDB Walisongo. Jazakillah khoir atas begitu banyak hal berharga yang sudah sama-sama kita lewati selama ini. Begitu banyak pelajaran dan berkah dari pertemuan kita, istiqomah, dan semoga ukhawah ini akan senantiasa kokoh hingga pertemuan kita kelak.
6. Sahabat-sahabat spesial (Lukman, Aziz, Imron, Agus, Barorotul, Yeni, Anita, Afdlila) yang selalu memberikan keceriaan, doa, senyuman, dan kekuatan dalam bingkai ukhwah. Kalian memang luar biasa, sukses selalu dalam mengejar mimpi kita masing-masing.
7. Pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu. Terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.

Terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada seluruh pihak yang telah terlibat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmat-Nya bagi kita semua. Terima kasih untuk bantuannya selama ini, semoga juga dapat menjadi amal ibadah di hadapan-Nya. Aamiin.

Penulis menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, maka dari itu penulis menerima dengan senang hati kritik dan saran yang membangun guna mendapatkan hasil yang lebih baik. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang kimia.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Semarang, 30 Juni 2015  
Penulis,

**Satria Bagus Firmansyah**  
NIM. 113711015

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>NOTA PEMBIMBING .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	7
C. Tujuan dan Manfaat Penelitian .....	8
<b>BAB II : LANDASAN TEORI</b>	
A. Deskripsi Teori .....	9
1. <i>Sargassum duplicatum</i> J. Agardh .....	9
2. Ekstraksi Senyawa Aktif .....	11
3. Senyawa Bioaktif .....	13
a. Flavonoid .....	14
b. Saponin .....	15
c. Triterpenoid/sterol .....	17
4. Total Fenolat .....	17

5. Senyawa Antioksidan.....	18
5.1 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH .....	21
6. Senyawa Antibakteri.....	23
7. Bakteri Salmonella .....	26
7.1 <i>Salmonella sp.</i> .....	26
8. Kerusakan Telur.....	29
B. Kajian Pustaka .....	31
C. Rumusan Hipotesis .....	38

### **BAB III : METODE PENELITIAN**

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian .....	40
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	40
C. Populasi dan Sampel Penelitian .....	41
D. Variabel dan Indikator Penelitian .....	42
E. Teknik Pengumpulan Data .....	43
F. Teknik Analisis Data .....	52

### **BAB IV : DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA**

A. Deskripsi Data .....	55
B. Analisis Data .....	67
C. Keterbatasan Penelitian .....	92

### **BAB V : PENUTUP**

A. Kesimpulan.....	93
B. Saran.....	94

## **DAFTAR PUSTAKA**

**LAMPIRAN I : METODE PENELITIAN**

**LAMPIRAN II : PERHITUNGAN KIMIA**

**LAMPIRAN III : GAMBAR PENELITIAN**

## DAFTAR TABEL

- Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia ekstrak Rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh), 59.
- Tabel 4.2 Hasil analisis fenolat total dalam ekstrak (*Sargassum duplicatum* J. Agardh), 76.
- Tabel 4.3 Absorbansi dan persen (%) Inhibisi pada sampel R.1, 80.
- Tabel 4.4 Absorbansi dan persen (%) Inhibisi pada sampel R.2, 81.
- Tabel 4.5. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak metanol rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh terhadap bakteri *Salmonella sp.* (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2, 86.

## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 2.1. Rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh (Sumber: Data Pribadi tanggal 27 Februari 2015), 10.
- Gambar 2.2. Struktur kimia radikal bebas (1) dan bentuk non radikal (2) DPPH, 21.
- Gambar 4.1. Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh), (Sumber: Data Pribadi tanggal 27 Februari 2015), 56.
- Gambar 4.2. Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Rumput Laut *S. duplicatum* J. Agardh, 60.
- Gambar 4.3. Hasil Uji Steroid Ekstrak Rumput Laut *S. duplicatum* J. Agardh, 61.
- Gambar 4.4. Hasil Uji Saponin Ekstrak Rumput Laut *S. duplicatum* J. Agardh, 62.
- Gambar 4.5. Ekstrak kasar Rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) (Data Pribadi tanggal 24 Maret 2015), 71.
- Gambar 4.6. Kurva Standar Asam Galat, 76.
- Gambar 4.7. Penentuan  $\lambda_{maks}$ , 80.
- Gambar 4.8. Grafik persen (%) Inhibisi ekstrak metanol pada sampel R.1, 81.
- Gambar 4.9. Grafik persen (%) Inhibisi ekstrak metanol pada sampel R.2, 82.
- Gambar 4.10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh terhadap bakteri *Salmonella sp.* (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2, 85.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Telur merupakan salah satu hasil produk unggulan di bidang peternakan unggas yang mengandung protein cukup tinggi dengan susunan asam amino lengkap. Bahan pangan ini mengandung lemak tak jenuh, vitamin dan mineral yang diperlukan tubuh dan sangat mudah dicerna. Masyarakat banyak mengkonsumsinya karena mempunyai rasa yang enak, harga yang murah dan juga dapat diolah menjadi berbagai macam olahan produk makanan.<sup>1</sup>

Telur itik (*Anas platyrhynchos*) adalah salah satu jenis telur yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Bobot dan ukuran telur itik rata-rata lebih besar dari pada telur ayam, berkisar antara 70-80 gram per butir. Cangkang telur itik berwarna biru muda.<sup>2</sup> Kualitas telur itik hampir sama dengan

---

<sup>1</sup>Y. Tulung, dkk., *Makalah Pengantar Falsafah Sains, Telur Sebagai Imunoterapi Penyakit Menular*, (Bogor: Program Pasca Sarjana IPB, 2003), dalam skripsi Ana Fitri, *Pengaruh Penambahan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis Dan Daya Simpan Telur Asin Pada Suhu Kamar*, (Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2007), hlm. 1.

<sup>2</sup>B. Srigandono, *Ilmu Unggas Air*. (Yogyakarta: UGM Press, 1986), dalam skripsi Ana Fitri, *Pengaruh Penambahan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis Dan Daya Simpan Telur Asin Pada Suhu Kamar*, (Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2007), hlm. 1.

telur ayam tetapi tingkat konsumsinya di masyarakat tidak sebanyak telur ayam. Hal ini mungkin disebabkan bau amisnya yang tajam, sehingga tidak biasa bagi konsumen di Indonesia.<sup>3</sup> Namun, telur itik ini bisa diolah menjadi produk makanan yang banyak disukai oleh masyarakat luas yaitu produk telur asin.

Telur asin merupakan bentuk olahan telur itik yang sampai sekarang paling dikenal dan paling digemari oleh masyarakat Indonesia. Telur asin merupakan telur yang diawetkan dengan cara diasinkan. Proses pengasinan telur ini selain bertujuan untuk membuang rasa amis dan menciptakan rasa yang khas tetapi juga untuk memperpanjang masa simpan telur.

Pengasinan merupakan proses penetrasi garam ke dalam bahan yang diasin dengan cara difusi setelah garam mengion menjadi  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$ . Garam dalam proses pengasinan telur ini berfungsi sebagai bahan pengawet yang akan mencegah pembusukan telur, sehingga akan meningkatkan daya simpannya. Semakin tinggi kadar garam dalam proses pengasinan telur maka akan menyebabkan semakin meningkat daya simpannya. Namun di sisi lain, telur akan menjadi tidak disukai oleh konsumen karena rasanya yang terlalu asin. Padahal kandungan garam di dalam telur dapat menghambat perkembangan mikroorganisme

---

<sup>3</sup> M. Rasyaf, *Pengelolaan Produksi Telur*, (Yogyakarta: Kanisius, Edisi 1 1991), dalam skripsi Ana Fitri, “*Pengaruh Penambahan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis dan Daya Simpan Telur Asin pada Suhu Kamar*, (Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2007), hlm. 2.

yang ada di dalam telur, sehingga telur dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama. Sama seperti produk peternakan lainnya, telur juga mudah mengalami kerusakan. Kerusakan pada telur dapat terjadi karena telur disimpan dalam ruang terbuka selama beberapa minggu tanpa diawetkan atau karena terjadi keretakan pada kulit telur yang menyebabkan mikroba mudah masuk ke dalam telur.

Telur merupakan medium pertumbuhan yang baik bagi mikroorganisme karena mengandung senyawa-senyawa yang dapat menjadi sumber nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme. Kandungan gizi yang tinggi pada telur merupakan media yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, baik mikroorganisme yang menyebabkan kerusakan pada telur maupun mikroorganisme yang menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia yang mengonsumsi telur tersebut. Mikroba akan mengkontaminasi kulit telur lalu memasuki pori-pori telur dan membran telur. Mikroorganisme selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan pada telur sehingga menjadi busuk, serta menghasilkan racun yang dapat menyebabkan terjadinya keracunan makanan. Salmonellosis adalah salah satu jenis racun atau penyakit yang disebabkan *Salmonella*. Penyakit ini dapat terjadi akibat mengonsumsi makanan/air yang tercemar *Salmonella*.

*Salmonella* dapat melakukan penetrasi ke bagian dalam telur melalui pori-pori ataupun retakan pada cangkang telur.<sup>4</sup>

Salah satu persyaratan yang penting untuk kualitas produk asal ternak adalah produk tersebut harus bebas bakteri patogen termasuk *Salmonella* sp. Kualitas suatu bahan makanan bila ditinjau dari segi mikrobiologis bisa dilihat dari adanya mikroorganisme, terutama jumlah dan macamnya.<sup>5</sup> Mata rantai tata niaga yang panjang dan proses penyimpanan yang kurang memadai dapat menyebabkan telur mengalami kerusakan walaupun sudah diawetkan dengan cara pengasinan. Perlu dilakukan gabungan dari metode pengawetan yang lain, yang dapat mempertahankan kualitas telur asin sehingga dapat memperpanjang masa simpannya. Penyimpanan telur asin dalam suhu dingin meskipun telah terbukti efektif dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme pembusuk, tetapi tidak banyak dilakukan produsen. Metode ini akan menambah biaya produksi

---

<sup>4</sup>T. Humphrey, "Public Health Aspect of *Salmonella* Infection". In: *Salmonella In Domestic Animal* (Eds. C. Wrey and A. Wrey). CAB International. UK, 2000, dalam skripsi Ana Fitri, *Pengaruh Penambahan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis dan Daya Simpan Telur Asin pada Suhu Kamar*, (Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2007), hlm. 20.

<sup>5</sup>M. J. Pelczar, dkk., *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 2, (Jakarta: UI Press, 1998), dalam skripsi Ana Fitri, *Pengaruh Penambahan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis dan Daya Simpan Telur Asin pada Suhu Kamar*, (Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2007), hlm. 2.

sehingga secara ekonomis kurang menguntungkan, selain itu tidak semua produsen, pedagang maupun konsumen memiliki lemari pendingin.

Alternatif pemecahannya dapat digunakan bahan-bahan pengawet alami yang lebih aman untuk dikonsumsi. Bahan alami yang mengandung senyawa antimikroba dan mudah dicari keberadaannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa antimikroba juga terdapat pada makhluk hidup yang tumbuh di laut.<sup>6</sup> Salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di laut adalah rumput laut.

Rumput laut, terutama *Phaeophyceae* (*Sargassum*) tersebar luas di perairan tropis, termasuk Indonesia.<sup>7</sup> Spesies-spesies *Sargassum* sp. yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, salah satunya adalah (*Sargassum duplicatum* J. Agardh). *S. duplicatum* J. Agardh merupakan rumput laut yang belum dibudidayakan, karena perolehan rumput laut jenis ini masih liar di alam. Riset ilmiah membuktikan bahwa ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin.<sup>8</sup>

---

<sup>6</sup>Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 50.

<sup>7</sup>L. M. Aslan, *Budidaya Rumput Laut*, (Yogyakarta: Kanisius, 1991), hlm. 30.

<sup>8</sup>Tri Setiana dan Ari Asnani, *Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat Sargassum duplicatum Menggunakan Berbagai Pelarut dan*

Senyawa fenol ini merupakan salah satu senyawa bioaktif tanaman yang bersifat sebagai antimikroba.<sup>9</sup> Senyawa ini akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Perusakan membran sel bakteri ini berawal dari ion H<sup>+</sup> dari senyawa fenol dan turunannya yang akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, sehingga membran akan bocor dan bakteri akan mengalami penghambatan bahkan kematian.<sup>10</sup>

Senyawa fenol ini merupakan salah satu senyawa bioaktif tanaman yang juga bisa bersifat sebagai antioksidan.<sup>11</sup> Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi atau suatu zat yang dapat menetralkan radikal bebas.

---

*Metode Ekstraksi*, (Purwokerto: Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman, 2012), hlm. 24.

<sup>9</sup>Midian Sirait, *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, (Bandung: Institut Teknologi Bandung, 2007), dalam skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor 2012), hlm. 47.

<sup>10</sup> Gilman, dkk, *The Pharmacological Basic Of The Raupetics*, (Pengamon Press Inc, 1991), dalam Jurnal Fahriya Puspita Sari dan Shofi Muktiana Sari, *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (Jatropha multifida Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*, (Semarang: Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Undip, 2012), hlm. 6.

<sup>11</sup> MS. Meskin, dkk., *Phytochemical in nutrition health*, (London: CRC, 2002), hlm. 145.

Senyawa ini juga sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan.<sup>12</sup>

Kandungan senyawa fenolat pada rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh berpotensi sebagai pengawet makanan alami. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh untuk memperkuat bahwa rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh berpotensi sebagai alternatif pengawet alami pada telur asin.

## **B. Rumusan Masalah**

Berkaitan dengan latar belakang masalah di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana aktivitas antioksidan pada ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri pada ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh?
3. Bagaimana potensi ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh sebagai alternatif pengawet alami pada telur asin?

---

<sup>12</sup> SR. Tamat, dkk., *Aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak rumput laut hijau Ulva reticulate Forsskal. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indones,a*, Vol. 5, No. 1, 2007, hlm. 31.

### C. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Adapun tujuan dari pelaksanaan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* **J. Agardh**.
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* **J. Agardh**.
3. Untuk mengetahui potensi ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* **J. Agardh** sebagai alternatif pengawet alami pada telur asin.

Secara garis besar penelitian ini akan memberikan manfaat, antara lain:

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan pada ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* **J. Agardh**
2. Memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri pada ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* **J. Agardh**
3. Memberikan informasi mengenai potensi ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* **J. Agardh** sebagai alternatif pengawet alami pada telur asin
4. Meningkatkan nilai tambah tumbuhan yaitu rumput laut *Sargassum duplicatum* **J. Agardh** yang mengandung senyawa antimikroba dan antioksidan untuk dapat digunakan dalam proses pengawetan telur asin.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Deskripsi Teori

##### 1. *Sargassum duplicatum* J. Agardh

*Sargassum* adalah jenis alga cokelat yang mempunyai bentuk *thallus* umumnya silindris atau gepeng dan berwarna cokelat, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang. *Sargassum* mempunyai gelembung udara dan panjangnya mencapai 7 meter.<sup>1</sup> *Sargassum* merupakan bagian dari kelompok rumput laut coklat (Phaeophyceae) dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae*. Klasifikasi *Sargassum* adalah sebagai berikut:<sup>2</sup>

Divisi : *Thallophyta*

Kelas : *Phaeophyceae*

Ordo : *Fucales*

Famili : *Sargassaceae*

Genus : *Sargassum*

Spesies : *Sargassum duplicatum* J. Agardh

---

<sup>1</sup>Aslan, "Budidaya Rumput Laut...", hlm. 30.

<sup>2</sup>C. Dawes, *Marine Botany*, (Inc. Canada: John Wiley and Sons, 1981), dalam Tesis Ristyana Ika Putranti, *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata dari Jepara*, (Semarang: Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Semarang 2013), hlm. 4.



Gambar 2.1. Rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh  
(Sumber: Data Pribadi tanggal 27 Februari 2015)

Rumput laut coklat jenis *Sargassum duplicatum* J. Agardh merupakan salah satu spesies dari beberapa spesies *Sargassum* yang tumbuh di Indonesia, yaitu *Sargassum duplicatum* J. Agardh, *Sargassum binderi*, *Sargassum cinereum*, *Sargassum cristaefolium*, *Sargassum echinocarpum*, *Sargassum plagyophyllum*, *Sargassum polycystum*, *Sargassum microphyllum*, dan *Sargassum crassifolium*.<sup>3</sup> Ciri-ciri dari *Sargassum duplicatum* J. Agardh ini adalah bentuk *thallus* bulat pada batang utama dan agak gepeng pada cabang, permukaan halus atau licin. *Sargassum duplicatum* J. Agardh memiliki percabangan *dichotomous* dengan daun padat lonjong, pinggir bergerigi, tebal dan duplikasi. *Sargassum duplicatum* J. Agardh

---

<sup>3</sup>W. S. Atmadja, dkk., *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia*. (Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi LIPI, 1996), hlm. 64-73.

mempunyai *vesicle* yang melekat pada batang daun, bulat telur atau elip, dan ada yang bersayap. Warna cokelat tua atau cokelat muda.

*Sargassum duplicatum* J. Agardh tumbuh menempel pada batu di daerah terumbu terutama dibagian pinggir luar rata-rata terumbu yang sering terkena ombak.<sup>4</sup> *Sargassum* selama ini dimanfaatkan sebagai sumber alginat. Asam alginat mengisi ruangan antar sel pada jaringan talus sehingga memperkokoh saluran jaringan tersebut. Alginat dapat diekstrak dari alga cokelat dengan larutan alkali.<sup>5</sup>

## 2. Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi merupakan metode pemisahan komponen-komponen tertentu antara dua atau lebih fase cairan.<sup>6</sup> Ekstraksi didefinisikan sebagai proses penarikan komponen yang diinginkan dari suatu bahan dengan cara pemisahan satu atau lebih komponen dari bahan tersebut. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi adalah lama

---

<sup>4</sup>Atmadja, "Pengenalan Jenis-jenis...", hlm. 68.

<sup>5</sup>Glicksman, *Food Hydrocoloids*, (Florida: CRC,1983) dalam skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 5.

<sup>6</sup>AIM Keulemans dan Walraven JJ, *Practical Instrumental Analysis*, (New York: Elsevier Publishing Company, 1965), dalam skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 5.

ekstraksi, suhu, dan jenis pelarut yang digunakan harus memperhatikan daya melarutkan, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar, dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi.

Prinsip ekstraksi adalah zat yang akan diekstrak hanya dapat larut dalam pelarut yang digunakan, sedangkan zat lainnya tidak akan larut. Proses perpindahan komponen bioaktif dari dalam bahan ke pelarut terjadi secara difusi. Proses difusi merupakan perubahan secara spontan dari fase yang memiliki konsentrasi lebih tinggi menuju konsentrasi lebih rendah. Proses ini akan terus berlangsung selama komponen bahan padat yang dipisahkan menyebar diantara kedua fase. Proses difusi akan berakhir jika kedua fase berada dalam kesetimbangan, yaitu apabila seluruh zat sudah terlarut di dalam zat air dan konsentrasi larutan yang terbentuk menjadi seragam.

Ekstraksi merupakan metode pemisahan komponen-komponen tertentu antara dua atau lebih fase cairan.<sup>7</sup> Ekstraksi didefinisikan sebagai proses penarikan komponen yang diinginkan dari suatu bahan dengan cara pemisahan satu atau lebih komponen dari bahan tersebut. Hasil ekstrak yang diperoleh akan sangat bergantung pada beberapa faktor, yaitu kondisi alamiah senyawa tersebut, metode

---

<sup>7</sup>AIM Keulemans dan Walraven JJ, "Practical Instrumental...", dalam skripsi Mawaddah Renhoran, "Aktivitas Antioksidan...", hlm. 5.

ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut dan sampel.<sup>8</sup>

Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino, dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon, dan glikosida. Pelarut non polar dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap.<sup>9</sup>

### 3. Senyawa Bioaktif

Komponen bioaktif merupakan kelompok senyawa fungsional yang terkandung dalam bahan pangan dan dapat memberikan pengaruh biologis. Sebagian besar komponen bioaktif adalah kelompok alkohol aromatik seperti polifenol dan komponen asam (*phenolic acid*). Komponen bioaktif tidak terbatas pada hasil metabolisme sekunder saja, tetapi

---

<sup>8</sup> Sabri Sudirman, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen bioaktif kangkung air (Ipomoea aquatica Forsk.)*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 55-58.

<sup>9</sup> JB Harborne, *Metode Fitokimia*, Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Niksolihin S, (Bandung: ITB, 1987), Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*, dalam Tesis Ristyana Ika Putranti, *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata dari Jepara*, (Semarang: Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Semarang 2013), hlm. 14.

juga termasuk metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional.<sup>10</sup> Pengujian kualitatif terhadap komponen bioaktif ini dapat dilakukan dengan metode uji fitokimia.

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang menguraikan aspek kimia suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencakup aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme. Kajian fitokimia mencakup struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay*.<sup>11</sup>

#### **a. Flavonoid**

Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik. Flavonoid terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah,

---

<sup>10</sup>Elis Permatasari, *Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada selada air (Nasturtium officinale L. R. Br)*, Skripsi, (Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 13.

<sup>11</sup>JB Harborne, "Metode Fitokimia...", dalam Tesis Ristyana Ika Putranti, "Skrining Fitokimia...", hlm.15.

tepung sari dan akar. Flavonoid diklasifikasikan menjadi flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, isoflavon, calkon, dihidrokalkon, auron, antosianidin, katekin dan flavan-3,4-diol.<sup>12</sup>

Flavonoid, umumnya berupa senyawa yang larut dalam air. Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70%. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia sehingga mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi oleh karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum *Ultra Violet* (UV) dan spektrum tampak. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga di lapisan amil alkohol pada uji fitokimia menunjukkan adanya flavonoid.<sup>13</sup>

#### **b. Saponin**

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi pada lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak

---

<sup>12</sup>Midian Sirait, *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, (Bandung: ITB, 2007), hlm. 130.

<sup>13</sup>JB Harborne, *Metode Fitokimia*, Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Niksolihin S, (Bandung: ITB, 1987), dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 8.

saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak.<sup>14</sup>

Saponin menyebabkan stimulasi pada jaringan tertentu misalnya, pada epitel hidung, bronkus, ginjal dan sebagainya. Stimulasi pada ginjal diperkirakan menimbulkan efek diuretika. Saponin dapat mempertinggi resorpsi berbagai zat oleh aktivitas permukaan. Saponin juga dapat meregangkan partikel tak larut dan menjadikan partikel tersebut tersebar dan terbagi halus dalam larutan.<sup>15</sup> Hasil penelitian Sahayaraj dan Kalidas (2011) menunjukkan bahwa analisis fitokimia yang dilakukan pada rumput laut *Padina pavonica* (Phaeophyta) dengan ekstrak kloroform dan benzena ditemukan senyawa steroid, saponin dan komponen fenol.<sup>16</sup>

---

<sup>14</sup> JB, Harborne, "Metode Fitokimia...", dalam Tesis Ristyana Ika Putranti, "Skrining Fitokimia...", hlm. 17.

<sup>15</sup> Midian Sirait, *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, (Bandung: ITB, 2007), hlm. 172.

<sup>16</sup> K. Sahayaraj, dan Kalidas S., *Evaluation of nymphicidal and ovicidal effect of a seaweed, Padina pavonica (Linn.) (Phaeophyta) on cotton pest, Dysdercus cingulatus (Fab.)*. *Indian Journal of Geo-Marine Science*. 40(1), dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, "Aktivitas Antioksidan...", hlm. 9.

### c. Triterpenoid/sterol

Triterpenoid adalah senyawa senyawa alam yang terbentuk dengan proses biosintesis dan terdistribusi secara luas dalam dunia tumbuhan dan hewan. Struktur terpenoid dibangun oleh molekul isoprene dengan kerangka terpenoid terbentuk dari dua atau lebih banyak satuan isoprena ( $C_5$ ).<sup>17</sup>

Sterol adalah triterpena yang kerangka dasarnya sistem cincin siklopentana perhidrofenantrena. Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol mungkin terdapat pada setiap tumbuhan tingkat tinggi yaitu sitosterol, stigmasterol dan kampesterol. Sterol tertentu hanya terdapat dalam tumbuhan tingkat rendah, contohnya ergosterol yang terdapat dalam khamir dan sejumlah fungi. Sterol lain terutama terdapat dalam tumbuhan tingkat rendah tetapi kadang-kadang terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi, misalnya fukosterol, yaitu steroid utama pada alga cokelat dan juga terdeteksi pada kelapa.<sup>18</sup>

## 4. Total Fenolat

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri sama yaitu

---

<sup>17</sup>Midian Sirait, "Penuntun Fitokimia...", hlm. 191.

<sup>18</sup>JB. Harborne, "Metode Fitokimia...", dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, "Aktivitas Antioksidan...", hlm. 10.

cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV. Salah satu jenis antioksidan dalam bahan pangan adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik terbukti sebagai sumber antioksidan yang efektif, penahan radikal bebas, dan pengkelat ion-ion logam.

Uji total fenolat ini umumnya menggunakan metode *Follin-Ciocalteu* untuk mengukur total fenol yang terdapat dalam sampel. Dalam metode ini, terjadi reaksi yang melibatkan oksidasi gugus fenolik (ROH) dengan campuran asam fosfotungstat dan asam molibdat dalam reagen, menjadi bentuk quinoid (R=O). Reduksi reagen *Follin-Ciocalteu* ini menghasilkan warna biru sesuai dengan kadar fenol total yang bereaksi. Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran dikarenakan asam galat merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua tanaman. Kandungan fenol asam organik ini bersifat murni dan stabil.<sup>19</sup>

## 5. Senyawa Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi atau suatu zat yang dapat

---

<sup>19</sup> RW., Kusumaningati, *Analisis kandungan fenol total jahe (Zingiber officinale Roscoe) secara in vitro, skripsi*, (Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, 2009), hlm.25.

menetralkan radikal bebas. Senyawa kimia ini yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Pada umumnya terdapat dua kategori dasar dari antioksidan yaitu natural dan sintetik.<sup>20</sup> Ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan internal dan eksternal. Antioksidan internal yaitu antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sendiri disebut sebagai antioksidan primer. Tubuh secara alami mampu menghasilkan antioksidan sendiri, tetapi kemampuan ini pun ada batasnya. Seiring dengan bertambahnya usia, kemampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan alami pun akan semakin berkurang. Hal inilah yang menyebabkan stres oksidatif, yaitu suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas melebihi kapasitas kemampuan netralisasi antioksidan.<sup>21</sup>

Antioksidan eksternal tidak dihasilkan oleh tubuh tetapi berasal dari makanan seperti vitamin A, beta karoten, vitamin C, vitamin E, selenium, flavonoid, dan lain-lain. Antioksidan yang berasal dari makanan atau dari luar tubuh

---

<sup>20</sup> Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 51.

<sup>21</sup> Resy Rosalina, *Efek rumput laut Eucheima sp. terhadap kadar glukosa darah dan jumlah monosit pada tikus wistar yang diinduksi aloksan*, Karya Ilmiah, (Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, 2009), hlm. 14.

disebut juga antioksidan sekunder. Antioksidan internal bekerja dengan cara menangkal terbentuknya radikal bebas, sedangkan antioksidan eksternal bekerja dengan cara meredam atau menetralsir antioksidan yang sudah terbentuk.<sup>22</sup>

Tamat *et al.* (2007) menjelaskan bahwa antioksidan dapat berbentuk gizi seperti vitamin E dan C, non gizi (pigmen karoten, likopen, flavonoid dan klorofil), dan enzim (glutation peroksidase, koenzim Q10 atau ubiquinon). Antioksidan dapat dibagi menjadi tiga golongan, yaitu antioksidan preventif (enzim superoksidadismutase, katalase dan glutation peroksidase), antioksidan primer (vitamin A, fenolat, favonoid, katekin, kuersetin) dan antioksidan komplementer (vitamin C,  $\beta$ -karoten dan retinoid).<sup>23</sup>

Hasil penelitian Swantara *et al.* (2009) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang ditemukan pada ekstrak dua spesies rumput laut yaitu *Exophylum wentii* dan *Gracillaria coronopifolia*.<sup>24</sup> Penelitian Kuda *et al.* (2005) juga menunjukkan ekstrak tiga alga cokelat yaitu

---

<sup>22</sup>R. Rosalina, “Efek rumput laut...”, hlm. 15.

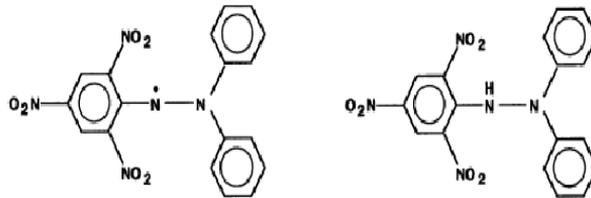
<sup>23</sup>SR Tamat, dkk, *Aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak rumput laut hijau Ulva reticulate Forsskal. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* (Volume 5, No. 1, 2007), hlm. 31.

<sup>24</sup>IMD Swantara, dkk, *Identifikasi senyawa antiradikal bebas pada rumput laut Sargassum ringgoldianum, Jurnal Kimia*, (Volume 6, No. 1, 2009), hlm. 23.

*Scytosiphon lomentoria*, *Papenfussilla kumoro* dan *Nemacystus decipiens* serta satu spesies ganggang merah yaitu *Porphyra* sp. Semua sampel tersebut menghasilkan adanya senyawa fenol 2,2-9,4 mg untuk 1000 gram sampel kering yang menunjukkan sifat antioksidan yang kuat.<sup>25</sup>

### 5.1 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode uji 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk memperkirakan efisiensi kinerja dari substansi yang berperan sebagai antioksidan. Metode ini merupakan salah satu metode yang sederhana dengan menggunakan DPPH sebagai senyawa pendeteksi. Struktur kimia DPPH dalam bentuk radikal bebas (1) dan bentuk kompleks non radikal (2) dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur kimia radikal bebas (1) dan bentuk non radikal (2) DPPH<sup>26</sup>

---

<sup>25</sup>T Kuda, dkk, *Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan*, *Journal of Food Composition and Analysis* 18 (2005), hlm. 625.

<sup>26</sup>P. Molyneux, *The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. *Journal of Science Technology*, (Volume 26, No. 2, 2004), hlm. 212.

Senyawa DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil sehingga dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi.<sup>27</sup> Terdapat tiga tahap reaksi antara DPPH dengan zat antioksidan, yang dapat dicontohkan dengan reaksi antara DPPH dengan senyawa monofenolat (antioksidan). Tahap pertama meliputi delokalisasi satu elektron pada gugus yang tersubstitusi dari senyawa tersebut, kemudian memberikan atom hidrogen untuk mereduksi DPPH. Tahap berikutnya meliputi dimerisasi antara dua radikal fenoksil, yang akan mentransfer radikal hidrogen dan akan bereaksi kembali dengan radikal DPPH. Tahap terakhir adalah pembentukan kompleks antara radikal hidroksil dengan radikal DPPH.

Pembentukan dimer maupun kompleks antara zat antioksidan dengan DPPH tergantung pada kestabilan dan potensial reaksi dari struktur molekulnya. Ketika DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen, maka akan terbentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal

---

<sup>27</sup>P. Molyneux, "The use of stable fre,,," hlm. 211.

hidrogen, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH.<sup>28</sup>

## 6. Senyawa Antibakteri

Senyawa antibakteri didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Senyawa antibakteri berdasarkan aktivitasnya dapat dibedakan atas senyawa yang bersifat *bakterisidal* (membunuh bakteri) seperti *pinisilin*, *basitrasin*, *neomisin* dan senyawa yang bersifat *bakteristatik* (menghambat pertumbuhan bakteri) seperti *tetrasiklin* dan *kloramfenikol*.<sup>29</sup> Senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain: konsentrasi zat antibakteri, waktu penyimpanan, suhu lingkungan, sifat-sifat mikroba seperti jenis, umur, konsentrasi, dan keadaan.

Senyawa antibakteri yang terkandung dalam berbagai ekstrak tanaman diketahui dapat menghambat bakteri

---

<sup>28</sup>Suratmo, *Potensi ekstrak daun sirih merah (Piper crocatum) sebagai antioksidan*, [http://fisika.ub.ac.id/bss-ub/PDF%20FILES/BSS\\_205\\_1.pdf](http://fisika.ub.ac.id/bss-ub/PDF%20FILES/BSS_205_1.pdf) [12 Februari 2011], dalam skripsi E. Permatasari, *Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada selada air (Nasturtium officinale L. R. Br)*, (Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 13.

<sup>29</sup>Pelczar MJ dan ECS. Chan, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Hadioetomo R, Sutarni I, Angka SL, penerjemah. Jakarta: UI, Terj. dari: *Element of Microbiology*, 1986, dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 13.

patogen maupun perusak pangan.<sup>30</sup> Senyawa antibakteri yang berasal dari tanaman, sebagian besar merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama golongan fenolik dan terpen dalam minyak atsiri dan alkaloid. Senyawa antibakteri alami yang berasal dari tanaman diantaranya adalah *fitoaleksin*, asam organik, minyak esensial (atsiri), *fenolik*, dan beberapa kelompok pigmen atau senyawa sejenis.

Mekanisme senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroba dibagi menjadi beberapa cara, yaitu (1) mengubah permeabilitas membran sehingga dengan rusaknya membran akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, (2) menyebabkan terjadinya denaturasi protein, (3) menghambat kerja enzim di dalam sel sehingga mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel, dan (4) merusak dinding sel mikroorganisme sehingga menyebabkan terjadinya lisis.<sup>31</sup>

---

<sup>30</sup> Frazier WC dan Westhoff, *Food Microbiology 4<sup>th</sup> edition*, (Singapore: McGraw-Hill Book, 1978), dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 13.

<sup>31</sup> MT Madigan, dkk., *Brock Biology of Microorganisms*, (USA: Prentice Hall International, 2004), dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 14.

Antibakteri alami umumnya berasal dari tanaman, hewan, maupun organisme yang diperoleh dengan melakukan proses pengekstrakan misalnya pada ekstrak rumput laut. Zat yang digunakan sebagai antibakteri harus mempunyai beberapa kriteria antara lain tidak bersifat racun, ekonomis, tidak merubah rasa, dan aroma makanan jika digunakan dalam bahan pangan. Zat tersebut juga sebaiknya tidak mengalami penurunan aktivitas selama proses dan penyimpanan, tidak menyebabkan galur resisten dan sebaiknya membunuh dibandingkan menghambat pertumbuhan bakteri.<sup>32</sup>

Choudhury *et al.* (2005) menyatakan bahwa alga laut memiliki potensi sebagai sumber antibakteri. Penelitian melakukan pengujian terhadap ekstrak metanol dari 56 rumput laut yang berasal dari kelas *Chlorophyta* (alga hijau), *Phaeophyta* (alga cokelat) dan *Rhodophyta* (alga merah). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari ketiga kelas rumput laut tersebut, jenis *Phaeophyta* (alga cokelat) memiliki aktivitas antibakteri tertinggi.<sup>33</sup>

---

<sup>32</sup>Frazier, *Food Microbiology 4<sup>th</sup> edition*, dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, “Aktivitas Antioksidan...”, hlm. 13.

<sup>33</sup>Choudhury, dkk., *In Vitro Antibacterial Activity of Extracts of selected Marine Algae and mangroves Against Fish Pathogens*, *Journal Asian Fisheries Science* 18 (2005), hlm. 185.

## 7. Bakteri Salmonella

Jenis bakteri yang dapat mengkontaminasi makanan terbagi menjadi dua jenis yaitu bakteri yang menyebabkan makanan menjadi rusak atau disebut bakteri perusak dan bakteri yang menyebabkan keracunan pada manusia atau disebut bakteri patogen. Penularan bakteri terhadap manusia melalui dua cara yaitu: (1) *intoksikasi*, yaitu makanan mengandung toksin yang dihasilkan bakteri yang tumbuh di dalam makanan tersebut, dan (2) *infeksi*, yaitu penyakit yang disebabkan oleh masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang telah terkontaminasi dan adanya reaksi dari tubuh terhadap keberadaan metabolit-metabolit yang dihasilkan bakteri yang bersifat patogen dan digunakan sebagai tolok ukur untuk mengetahui besarnya tingkat aktivitas antimikroba.<sup>34</sup>

### 7.1 *Salmonella sp.*

*Salmonella* bersifat Gram negatif, tidak berbentuk spora, berbentuk batang dengan panjang 2-5  $\mu\text{m}$ , dapat memfermentasi glukosa dan biasanya disertai dengan pembentukan gas, serta tidak

---

<sup>34</sup>U. Suriawiria, *Mikrobiologi Dasar*, (Jakarta: Penerbit Paps Sinar Sinanti, 2005), dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, *Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuningtelur Yang Ditambah Madu Dengan Jenis dan Umur Telur Yang Berbeda*, (Bogor: Departemen ilmu produksi dan teknologi peternakan Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 6.

memfermentasi laktosa atau sukrosa.<sup>35</sup> *Salmonella* sp. merupakan mikroba yang paling banyak terdapat dalam telur, sehingga digunakan sebagai uji mikroba kontaminan pada telur.<sup>36</sup> *Salmonella* merupakan bakteri yang termasuk dalam famili Enterobacteriaceae dan sub famili Escherichieae, karena habitat primernya dalam usus besar manusia (saluran pencernaan) sehingga disebut sebagai bakteri enterik. Bakteri ini juga terdapat di saluran pencernaan hewan ternak dan burung. *Salmonella* merupakan bakteri fakultatif aerob, dengan suhu optimum pertumbuhannya antara 35-37°C.<sup>37</sup>

---

<sup>35</sup>C. Bell, dan A. Kyriakides. 2003. *Salmonella*, In : Blackburn, C. Dan McClure. P.J (Ed), Foodborne Pathogens (Hazard, Risk, Analysis and Control), (England: Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2003), dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, *Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuningtelur yang Ditambah Madu dengan Jenis dan Umur Telur yang Berbeda*, (Bogor: Departemen ilmu produksi dan teknologi peternakan Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 6.

<sup>36</sup>F.G. Winarno, dan S. Koswara, *Telur: Komposisi, Penanganan dan Pengolahannya*, (Bogor: M - Brio Press, 2002), dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, *Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuning telur yang Ditambah Madu dengan Jenis dan Umur Telur yang Berbeda*, (Bogor: Departemen ilmu produksi dan teknologi peternakan Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 6.

<sup>37</sup> Buckle, dkk., *Ilmu Pangan*, terj. Purnomo H. dan Adiono, (Jakarta: UI Press, 1987) dalam skripsi Ana fitri, *Pengaruh Penambahan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis dan Daya Simpan Telur Asin Pada Suhu Kamar*, (Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas sebelas maret, 2007), hlm. 18.

Sumber utama *Salmonella* yaitu pada telur segar yang belum mengalami pengolahan. Banyak penelitian yang menyatakan bahwa kontaminasi *Salmonella* pada telur terjadi saat bakteri menginfeksi jaringan reproduksi ayam betina dan kerabang telur. Senyawa antibakteri ini akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel. Perusakan membran sel ini berawal dari ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya yang akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini yang mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran akan bocor dan bakteri akan mengalami penghambatan bahkan kematian.<sup>38</sup>

*Salmonella sp.* masuk ke dalam telur melalui dua cara yaitu secara langsung (vertikal) dan tidak langsung (horizontal). Cara pertama, yaitu secara vertikal, yakni melalui kuning telur dan *albumen* (putih telur) dari ovari induk ayam yang terinfeksi *Salmonella sp.*, sebelum telur tertutup oleh kerabang

---

<sup>38</sup> Gilman, dkk, *The Pharmacological Basic Of The Raupetics*, (Pengamon Press Inc, 1991), dalam Jurnal Fahriya Puspita Sari dan Shofi Mukhtiana Sari, *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*, (Semarang: Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Undip, 2012), hlm. 6.

telur. Cara kedua yaitu secara horizontal, yaitu *Salmonella sp.* masuk melalui pori-pori kerabang setelah telur tertutup kulit. Hasil beberapa laporan menyatakan bahwa kontaminasi *Salmonella enteritidis* biasanya terjadi secara vertikal, sedangkan *Salmonella sp.* lain secara horizontal. Keberadaan *Salmonella sp.* dalam telur menyebabkan kasus *Salmonellosis* bisa berasal dari telur-telur *grade A*, yang dari luar terlihat sehat dan bersih tetapi dikonsumsi mentah atau dimasak kurang sempurna.<sup>39</sup>

## 8. Kerusakan Telur

Kerusakan telur yang disebabkan oleh mikroba dapat diawali dengan masuknya mikroba tersebut ke dalam pori-pori dan selaput telur.<sup>40</sup> Faktor yang dapat mempengaruhi masuknya mikroba ke dalam telur diantaranya faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik yaitu kandungan kutikula pada kulit telur, membran kulit telur dan karakteristik kulit telur. Faktor ekstrinsik diantaranya jumlah

---

<sup>39</sup> C. B. Michalski, dkk., *Use of capillary tubes and plate heat exchanger to validate U.S. Department of Agriculture pasteurization protocols for elimination of Salmonella enteritidis from liquid egg products. Journal Food Prot.* 62 (1999), dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, *Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuningtelur Yang Ditambah Madu Dengan Jenis dan Umur Telur Yang Berbeda*, (Bogor: Departemen ilmu produksi dan teknologi peternakan Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 6.

<sup>40</sup> W. Messens, dkk., *Eggshell penetration by Salmonella.* (Belgia: J. World Poult. Sci., 2005), hlm. 73.

dan jenis bakteri, suhu, kelembaban dan kondisi penyimpanan. Bakteri masuk ke dalam telur melalui kulit telur yang berpori. Jika semakin lama umur telur tersebut maka semakin banyak bakteri yang akan masuk melalui pori-pori yang ada pada kerabang telur.<sup>41</sup> Sejak dikeluarkan dari kloaka, telur mengalami berbagai perubahan karena pengaruh waktu dan kondisi lingkungan yang akhirnya dapat menyebabkan kerusakan pada telur.

Kerusakan telur yang disebabkan mikroba pada mulanya berasal dari luar telur, masuk dari kulit telur ke putih telur dan akhirnya ke kuning telur. Telur masih cukup steril pada saat baru dikeluarkan oleh ayam. Mikroba akan mengkontaminasi kulit telur dan seterusnya akan memasuki pori-pori telur dan membran telur. Organisme kontaminan tersebut dapat tumbuh pada membran kulit telur, pada putih telur bahkan dapat memasuki kuning telur. Kerusakan ini ditandai oleh adanya penyimpangan warna dan timbulnya bau busuk dari isi telur.<sup>42</sup>

Daya tahan produk-produk unggas dapat diketahui dari kandungan mikroorganisme pembusuk di dalam produk

---

<sup>41</sup> P. M Gaman, dan K. B. Sherrington, *Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*, Terj. Gardjito, M., S. Naruki., A. Murdiati dan Sardjono. (Yogyakarta: Gajah Mada University Press, 1992), dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, "Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuningtelur...", hlm. 7.

<sup>42</sup> Winarno, "Telur: Komposisi...", dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, "Kajian Sifat Fisik...", hlm. 8.

tersebut. Jenis pembusukan yang umum terjadi dipengaruhi oleh jenis produk, komposisi produk, proses termal yang diterapkan terhadap produk, kontaminasi selama pengolahan dan pengepakan, cara pengepakan dan suhu serta waktu penyimpanan.<sup>43</sup>

## **B. Kajian Pustaka**

Pertama, penelitian yang dilakukan oleh Aisyah Tri Septiana dan Ari Asnani, pada tahun 2012 yaitu “Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi”. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan metode ekstraksi terhadap sifat fisikokimia ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum*. Hasil dari penelitian ini adalah bahwa komponen bioaktif dalam ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* dapat diekstrak menggunakan pelarut yang mempunyai polaritas yang berbeda, sehingga ekstrak yang dihasilkan juga memiliki sifat fisikokimia yang berbeda. Secara kualitatif, semua ekstrak mengandung flavonoid, saponin, dan terpenoid dalam jumlah yang hampir sama tetapi ekstrak heksana

---

<sup>43</sup>S. Fardiaz, *Mikrobiologi Pengolahan Pangan*, (Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, 1992), dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, *Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuningtelur Yang Ditambah Madu Dengan Jenis dan Umur Telur Yang Berbeda*, (Bogor: Departemen ilmu produksi dan teknologi peternakan Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 7.

dan ekstrak air mengandung tanin yang lebih rendah dibanding ekstrak etanol, metanol dan ekstrak etil asetat.<sup>44</sup>

Kedua, penelitian yang dilakukan oleh Aisyah Tri Septiana dan Ari Asnani, pada tahun 2013 yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpuk Laut *Sargassum duplicatum*”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum duplicatum* hasil ekstraksi pelarut secara ekstraksi satu tahap dan bertingkat. Pelarut yang digunakan adalah hexana, etil asetat, metanol, etanol, dan air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum duplicatum* dapat menghambat oksidasi asam linoleat dan menangkap radikal bebas. Kemampuan penghambatan peroksida maupun MDA oleh ekstrak metanol adalah yang paling tinggi tidak berbeda dengan ekstrak etanol dan etil asetat tetapi lebih tinggi dari ekstrak heksan dan air. Ekstrak metanol hasil ekstraksi satu tahap menghambat pembentukan peroksida sebesar 86.4% dan MDA sebesar 77.5%.<sup>45</sup>

Ketiga, penelitian yang dilakukan oleh Mawaddah Renhoran pada tahun 2012 yaitu “Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum*”. Tujuan penelitian

---

<sup>44</sup>Aisyah Tri Setiana dan Ari Asnani, *Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumpuk Laut Coklat Sargassum Duplicatum Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi*, Skripsi, (Purwokerto: Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman, 2012), hlm. 27.

<sup>45</sup>Aisyah Tri Septiana dan Ari Asnani, *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpuk Laut Sargassum duplicatum*, *Jurnal Teknologi Pertanian*, (Vol. 14 No. 2, Agustus/2013), hlm. 85.

ini adalah untuk menentukan pengaruh beberapa pelarut terhadap rendemen ekstrak kasar, kandungan fitokimia, total fenol, dan menguji aktivitas antioksidan dan antimikroba yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum polycystum*. Hasil penelitian ini ialah bahwa proses ekstraksi *Sargassum polycystum* menggunakan pelarut yang berbeda memberikan pengaruh terhadap rendemen ekstrak kasar, kandungan fitokimia, total fenol serta aktivitas antioksidan dan antimikroba.

Rendemen tertinggi dihasilkan oleh ekstrak metanol sebesar 17,93%, etil asetat sebesar 1% dan n-heksana sebesar 0,57%. Kandungan fitokimia yang diidentifikasi dalam ekstrak meliputi steroid, flavonoid, dan fenol hidrokuinon. Senyawa fitokimia yang memiliki intensitas yang tinggi adalah etil asetat. Kandungan total fenol tertinggi yang dihasilkan ekstrak kasar *Sargassum polycystum* adalah dengan pelarut metanol sebesar 35,37 mg GAE/100 g, dan nilai zona hambat pada uji aktivitas antimikroba pada bakteri *S. aureus* relatif tinggi pada ekstrak kasar metanol.<sup>46</sup>

Keempat, penelitian yang dilakukan oleh Ana Fitri pada tahun 2007 yakni “Pengaruh Penambahan Daun Salam (*Eugenia Polyantha* Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis dan Daya Simpan Telur Asin Pada Suhu Kamar”. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh

---

<sup>46</sup>Mawaddah Renhoran, “Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba...”, hlm. 50.

penambahan daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) dengan beberapa konsentrasi terhadap kualitas mikrobiologis, kualitas organoleptis, dan daya simpan telur asin pada suhu kamar. Hasil dari penelitian ini adalah Isolasi terhadap bakteri patogen *Salmonella* sp. pada telur asin menunjukkan hasil yang negatif sampai 4 minggu penyimpanan. Jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* yang tertinggi ditemukan pada telur asin yang disimpan selama 4 minggu dengan penambahan konsentrasi daun salam 1:4. Uji organoleptis menunjukkan penambahan daun salam tidak berpengaruh terhadap rasa telur asin secara signifikan dan memiliki hubungan yang negatif. Konsentrasi daun salam berpengaruh terhadap kadar TVB telur asin pada lama penyimpanan yang berbeda pada suhu kamar. Pengujian secara mikrobiologis menunjukkan bahwa telur asin sudah tidak layak dikonsumsi pada minggu ke 4.<sup>47</sup>

Kelima, penelitian ini dilakukan oleh Nurul Afifah pada tahun 2013 yakni “Uji *Salmonella-Shigella* pada Telur Ayam yang disimpan pada Suhu dan Waktu yang Berbeda”. Tujuan penelitian ini adalah untuk uji *Salmonella-Shigella* pada telur ayam yang disimpan pada suhu dan waktu yang berbeda. Hasilnya dari semua data yang diperoleh dalam penelitian ini

---

<sup>47</sup>Ana Fitri, *Pengaruh Penambahan Daun salam (Eugenia polyantha Wight) terhadap kualitas mikrobiologis, kualitas organoleptis dan daya simpan telur asin pada suhu kamar*, Skripsi, (Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret, 2007), hlm. 48.

dapat disimpulkan bahwa suhu dan lama penyimpanan tidak ada hubungannya dengan keberadaan *Salmonella-Shigella* pada telur. Tapi ini belum bisa dipastikan terhadap bakteri lain karena penelitian ini hanya menggunakan medium selektif terhadap bakteri *Salmonella-Shigella* tua, dan putih telurnya masih dapat dibedakan antara putih telur kental dan putih telur encer. Sebaliknya pada telur yang sudah disimpan dalam waktu yang lama walaupun kuning telurnya makin mengembang, warna kuning muda/memudar, sudah terjadi perubahan bau, dan putih telur sudah encer namun tetap tidak ditemukan *Salmonella-Shigella*.

Penelitian ini menggunakan medium SSA sebagai medium pertumbuhan bakteri. Medium SSA ini merupakan medium selektif, hanya menumbuhkan bakteri *Salmonella-Shigella*. Berdasarkan komposisinya medium ini terdiri dari *peptone, lab lemco/beef extract, laktosa, ox bile dried, sodium citrate, sodium thisulfat, ammonium iron (III) citrate, brilliant green*, dan *neutral red agar*, yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain, sehingga dapat dinyatakan dengan menggunakan medium selektif ini hanya *Salmonella-Shigella* yang tumbuh dan berkembangbiak.

Keenam, penelitian yang dilakukan oleh Tri Yuliyanto pada tahun 2011, yakni “Pengaruh Penambahan Ekstrak Teh Hijau, Ekstrak Daun Jambu Biji, dan Ekstrak Daun Salam Pada Pembuatan Telur Asin Rebus Terhadap Total Bakteri Selama Penyimpanan”. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui

pengaruh penambahan ekstrak teh hijau, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak daun salam pada pembuatan telur asin rebus terhadap total bakteri selama penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak daun salam mempunyai antibakteri yang berbeda pada telur asin. Ekstrak yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah ekstrak daun jambu biji. Total bakteri pada hari ke 20 pada telur asin kontrol sebanyak  $3,4 \times 10^9$  cfu/g.<sup>48</sup>

Penelitian-penelitian yang telah dikemukakan di atas merupakan penelitian-penelitian yang *akuntabel* dan tidak dapat dipandang sebelah mata. Penelitian yang memakan waktu dan biaya yang tidak sedikit, namun seiring berjalannya waktu penelitian-penelitian tersebut tergantikan dengan penelitian yang baru, karena ilmu pengetahuan selalu berkembang dan menuntut perubahan serta mulai ditemukannya solusi atas kekurangan-kekurangan yang masih terdapat pada penelitian terdahulu.

Penelitian sebelumnya telah menghasilkan suatu metode terbaru untuk menghasilkan telur asin berdaya simpan lebih lama. Metode tersebut ialah dengan pengasinan dan dilakukan perendaman menggunakan ekstrak teh hijau, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak daun salam. Ekstrak tersebut dibuat dengan

---

<sup>48</sup>Tri Yuliyanto, *Pengaruh Penambahan Ekstrak Teh Hijau, Ekstrak Daun Jambu Biji, dan Ekstrak Daun Salam Pada Pembuatan Telur Asin Rebus Terhadap Total Bakteri Selama Penyimpanan*, Skripsi, (Surakarta: Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, 2011), hlm. 32.

direndam di air. Pengujian daya tahan telurnya ialah dengan analisis total bakteri serta uji sensoris pada telur asin matang.

Penelitian ini mencoba memberikan suatu informasi terbaru mengenai potensi dari ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh sebagai salah satu metode pengawetan alami pada telur asin. Ekstrak teh hijau, ekstrak daun jambu biji, dan ekstrak daun salam yang digunakan pada penelitian sebelumnya diganti menggunakan ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh.

Penggunaan ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh ini berdasarkan kepada literatur sebelumnya yang menjelaskan bahwa tumbuhan ini memiliki kandungan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri. Senyawa ini akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Perusakan membran sel bakteri ini berawal dari ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya yang akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini yang mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran akan bocor dan bakteri akan mengalami penghambatan bahkan kematian.<sup>49</sup>

---

<sup>49</sup> Gilman, dkk, *The Pharmacological Basic Of The Raupetics*, (Pengamon Press Inc, 1991), dalam Jurnal Fahriya Puspita Sari dan Shofi Muktiana Sari, *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (Jatropha multifida Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*, (Semarang: Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Undip, 2012), hlm. 6.

Senyawa antibakteri dari ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh ini akan digunakan sebagai salah satu metode alternatif alami pengawetan pada telur asin, dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk pada telur asin tersebut. Ekstrak rumput laut ini diperoleh dari evaporasi dengan pelarut metanol. Penggunaan pelarut organik (metanol) ini karena berdasarkan literatur pelarut organik mampu mengekstrak secara maksimal senyawa bioaktif yang terkandung dalam rumput laut tersebut. Pengujian daya tahan telur asin ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh dilakukan langsung pada ekstraknya, bukan pada telur asin matangnya. Perlakuan ini juga diterapkan pada saat uji aktivitas antimikroba yakni langsung diujikan ke bakteri *Salmonella sp.* Bakteri ini yang banyak terdapat pada produk unggas. Ekstrak rumput laut ini juga diuji aktivitas antioksidannya dengan perlakuan variasi pemanasan.

### **C. Rumusan Hipotesis**

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap rumusan masalah penelitian, di mana rumusan masalah penelitian telah dinyatakan dalam bentuk kalimat pertanyaan. Hipotesis dapat dikemukakan setelah dilakukan pendalaman permasalahan penelitian dengan saksama dan menetapkan anggapan dasar. Penelitian ini mengacu pada pengumpulan data-data yang paling berguna untuk membuktikan hipotesis. Penelitian juga menguji

hipotesis yang dirumuskan berdasarkan data yang terkumpul.<sup>50</sup> Hipotesis yang diajukan yaitu ekstrak metanol rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh memiliki aktivitas antioksidan dan aktivitas antimikroba sehingga berpotensi untuk dijadikan pengawet alami pada telur asin.

---

<sup>50</sup>Suharsimi Arikunto, *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*, (Jakarta: PT Asdi Mahasatya. 2006), hlm. 110.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis dan Pendekatan Penelitian**

Suatu penelitian selalu dihadapkan pada permasalahan yang akan dipecahkan. Metode eksperimen laboratorium ini digunakan untuk memecahkan masalah tersebut. Pelaksanaannya dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu tahap penyiapan sampel, ekstraksi, uji fitokimia, uji antioksidan dan uji antimikroba.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Tempat dan waktu penelitian dapat diuraikan sebagai berikut:

##### **1. Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di lima tempat yang berbeda, yaitu:

- a. Tempat pengambilan sampel dilakukan di Teluk Awur, Kecamatan Tahunan, Kabupaten Jepara
- b. Tempat preparasi sampel dilakukan di Perumahan Wahyu Asri, Semarang
- c. Tempat penelitian untuk ekstraksi sampel dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian UNIKA Soegijapranata Semarang
- d. Tempat penelitian untuk uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan di

Laboratorium Kimia Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Walisongo Semarang

- e. Tempat penelitian untuk uji aktivitas antimikroba dilakukan di Laboratorium Ilmu Gizi dan Teknologi Pangan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

## **2. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2015. Pemilihan waktu tersebut dengan pertimbangan bahwa telah diselesaikannya tahapan pra penelitian yakni pembuatan proposal penelitian yang merupakan syarat untuk dapat melakukan penelitian.

## **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

### **1. Populasi**

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas: objek atau subjek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Tumbuhan rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh berkedudukan sebagai populasi pada penelitian ini.

## 2. Sampel

Sampel merupakan sebagian atau wakil yang diteliti.<sup>1</sup> Sampel yang digunakan pada penelitian ini ialah 150 gram rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh yang ada di perairan Teluk Awur, Jepara. Pemilihan tempat ini karena pertimbangan bahwa masih banyaknya tumbuhan rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh di daerah tersebut yang tidak dimanfaatkan secara maksimal oleh penduduk sekitar.

## 3. Sampling

Sampling merupakan teknik pengambilan sampel. Teknik sampling yang digunakan adalah sampling lapangan (*field sampling*). Sampling lapangan banyak digunakan untuk penelitian eksperimen. Pengambilan sampel berlangsung di tempat penelitian tersebut dilakukan. Sampel diambil pada tanggal 28 Pebruari 2015 dengan teknik pengambilan langsung di daerah karang laut daerah Teluk Awur, Jepara.

## D. Variabel dan Indikator Penelitian

Variabel dalam penelitian merupakan suatu atribut dari sekelompok objek yang diteliti yang memiliki variasi antara

---

<sup>1</sup> Suharsimi Arikunto, “*Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik...*”, hlm. 131.

objek dengan objek yang lain dalam kelompok tersebut.<sup>2</sup> Variabel yang terdapat pada penelitian ini yakni:

**1. Variabel bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang nilainya divariasikan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemanasan ekstrak kasar

**2. Variabel Terikat**

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi titik pusat penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan golongan senyawa bioaktif alami ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh, kadar fenolat, aktivitas antioksidan dan aktivitas antimikroba

**3. Variabel Terkontrol**

Variabel terkontrol adalah faktor yang mempengaruhi hasil reaksi, tetapi dapat dikendalikan. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jenis pelarut.

**E. Teknik Pengumpulan Data**

Penelitian ini menggunakan beberapa cara dalam proses pengumpulan data, yaitu: ekstraksi sampel, uji fitokimia (flavonoid, saponin, dan steroid), uji total fenolat, uji antimikroba, dan uji antioksidan.

---

<sup>2</sup>Sugiarto, dkk., *Teknik Sampling*, (Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. 2003), hlm. 13.

## 1. Alat dan bahan

### a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 buah Neraca analitik, 2 buah gelas ukur 5 mL, 1 buah mortal, 2 buah gelas ukur 10 mL, 10 buah tabung reaksi, 4 buah gelas beker 500 mL, 2 buah gelas beker 200 mL, 4 buah gelas beker 100 mL, 2 buah gelas beker 50 mL, dan 2 buah gelas beker 25 mL.

Penelitian ini juga menggunakan alat-alat lainnya seperti 2 buah corong kaca, 2 buah batang pengaduk, 10 buah labu ukur 10 mL, 4 buah labu ukur 20 mL, 2 buah labu ukur 25 mL, 2 buah labu ukur 50 mL, 1 buah pemanas listrik, 2 buah Termometer, 10 buah pipet tetes, 1 buah Vakum *rotary evaporator* yang ada di Laboratorium UNIKA, 1 buah Spektrofotometer UV-Vis, 2 buah Erlenmeyer, dan 4 buah gelas arloji.

### b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 mL Kloroform (*E.Merck*), 10 mL Anhidrat asetat dibeli dari Undip, 5 mL Asam sulfat pekat (*E.Merck*), 1 gram serbuk Magnesium dibeli dari Undip, 5 mL Amil alkohol dibeli dari Undip, 20 mL Etanol 70% (*E.Merck*), 200 mL air panas, 5 mL HCL 2 N (*E.Merck*), reagen Folin-Ciocalteau 50% (v/v) dibeli dari Undip, 5 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5% (b/v) (*E.Merck*), 10 mL

Etanol 96% (*E.Merck*), 2 mg DPPH dibeli dari Undip, 1,4 L Metanol *p.a* (*E.Merck*), 2 L Aquades, 1 buah Alumunium Foil, kertas label, 10 mg Asam galat dibeli dari Undip, dan 15 mL Metilen Klorida (*E.Merck*).

## 2. Cara Kerja

### a. Pengambilan, preparasi dan ekstraksi bahan baku

Pengambilan sampel rumput laut dilakukan pada saat surut. Rumput laut yang telah diambil diberi label dan disimpan dalam *coolbox* yang telah berisi es batu untuk menjaga kesegaran rumput laut selama perjalanan menuju laboratorium. Preparasi rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh dimulai dengan proses pencucian, pengeringan dan penggilingan. Rumput laut segar dicuci dengan menggunakan air tawar. Sampel dikeringkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama  $\pm 10$  hari. Rumput laut yang telah kering dihaluskan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik kemudian ditimbang dengan timbangan analitik dan disimpan dalam kondisi kering untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.

Tahap selanjutnya adalah ekstraksi bahan aktif. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi tunggal yang mengacu pada (Quinn, 1988

dalam Darusman *et al.* 1995).<sup>3</sup> Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut metanol. Sampel yang telah dihancurkan ditimbang sebanyak 150 gram dan dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 1100 mL selama 48 jam. Hasil maserasi yang berupa larutan kemudian disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh dievaporasi hingga pelarut memisah dengan ekstrak menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu kurang dari 50 °C. Ekstrak ini kemudian dibagi menjadi dua sampel. Sampel yang pertama merupakan ekstrak tanpa perlakuan (R.1). Sampel yang kedua merupakan ekstrak yang diberi pemanasan selama 45 menit diatas water bath sampai mendidih pada suhu 100 °C (R.2). Pembagian sampel ini dilakukan untuk memberikan data pelengkap mengenai pengaruh perlakuan pemanasan terhadap sampel, sehingga dapat dijadikan informasi tambahan pada penelitian ini.

---

<sup>3</sup>Darusman LK, dkk., *Ekstraksi komponen bioaktif sebagai bahan obat dari karang-karang, bunga karang dan ganggang laut di perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu*, *Buletin kimia*, (Bogor: Institut Pertanian Bogor, 1995), dalam skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum Polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor 2012), hlm. 20.

## **b. Uji Fitokimia**

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak kasar *Sargassum duplicatum* J. Agardh. Uji fitokimia yang dilakukan merupakan modifikasi dari Harborne (1987) yang meliputi uji steroid/triterpenoid, flavonoid, dan saponin.

### **1) Steroid/triterpenoid**

Sebanyak 0,05 mg sampel dilarutkan dalam 2 mL kloroform dalam tabung reaksi yang kering. Kemudian ditambahkan 10 tetes anhidrat asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat.

### **2) Flavonoid**

Sebanyak 0,05 mg sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campurkan dikocok.

### **3) Saponin**

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Sebanyak 0,05 mg sampel dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi air panas 20 mL kemudian dikocok.

**c. Uji Total Fenol**

Kandungan total fenol ditentukan dengan menggunakan prosedur *Folin-Ciocalteu* yang dimodifikasi dari Pambayun *et al.* (2007) dimana uji kandungan total fenol dilakukan untuk mengetahui jumlah fenol yang terdapat pada sampel. Ekstrak kasar dengan berat sekitar 5 mg ditimbang lalu dilarutkan dengan 2 mL etanol 96%. Larutan ditambahkan 5 mL akuades dan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu* 50% (v/v). Campuran didiamkan selama 5 menit dan ditambahkan 1 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5% (b/v). Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 15 menit. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 805 nm. Asam galat digunakan sebagai standar dengan konsentrasi 10, 15, 25, dan 50 ppm. Kandungan total fenol diinterpretasikan sebagai milligram ekivalen asam galat (GAE = *Galic Acid Equivalent*) per 100 g sampel (mg GAE/100 g sampel).

**d. Uji Antioksidan**

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pertama kali dijelaskan oleh Blois. Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan prosedur Blois, yaitu absorbansi yang

dihitung dari 1 ml sampel dicampur 1 ml DPPH dan diencerkan dengan 2 ml metanol.<sup>4</sup>

**1) Pembuatan larutan DPPH**

Sebanyak 2 mg DPPH dilarutkan dalam 20 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi 100 µg/ml.

**2) Optimasi panjang gelombang DPPH**

Larutan DPPH dengan konsentrasi 100 µg/ml yang telah dibuat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510-530 nm ditentukan  $\lambda$  optimumnya.

**3) Pengujian absorbansi larutan blanko**

Sebanyak 1 ml larutan DPPH 100 µg/ml dimasukkan dalam tabung reaksi lalu ditambah 2 ml metanol kemudian dihomogenkan. Larutan diinkubasi dalam penangas air 37<sup>0</sup> C selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang optimum.

**4) Pengujian ekstrak**

Sebanyak 25 mg dari ekstrak rumput laut (tanpa pemanasan dan dengan pemanasan) masing-masing dilarutkan dalam 25 ml metanol *p.a* sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/ml. Dilakukan pengenceran sehingga diperoleh larutan

---

<sup>4</sup>Molyneux, “*The use of the stable free radical diphenyl picrylhy drazyl (DPPH)...*”, hlm 213

dengan konsentrasi 25 µg/ml, 50 µg/ml, 75 µg/ml dan 100 µg/ml. Caranya dengan memipet larutan induk berturut-turut sebanyak 0,25 ml; 0,5 ml; 0,75 ml ;1 ml, dimasukkan pada labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan metanol *p.a* hingga tanda batas.

Sebanyak 1 ml dari masing-masing konsentrasi larutan sampel (ekstrak) dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml DPPH 100 µg/ml dan diencerkan dengan 2 ml metanol *p.a* kemudian dihomogenkan. Masing-masing larutan dalam tabung reaksi diinkubasi dalam penanggas air 37<sup>0</sup> C selama 30 menit dan diukur absorbansinya satu per satu pada  $\lambda_{max}$ .

#### e. Uji Antibakteri

##### 1) Sterilisasi alat dan bahan

Sebelum penelitian dimulai, maka semua alat yang digunakan terlebih dahulu disterilisasi dengan autoklav pada suhu 121°C dan tekanan 15 Psi selama 15 menit.

##### 2) Penyediaan medium SSA (*Salmonella –Shigella Agar*)

Medium SSA dibuat dengan cara memasukkan 45 gram SSA instant dalam gelas beker, kemudian ditambahkan aquades hingga volume 700 ml. Rebus sampai mendidih sambil

diaduk-aduk agar tidak menggumpal. Setelah mendidih dimasukkan ke dalam erlemeyer 1 liter, dinginkan kemudian tuang medium SSA ke dalam cawan petri.

### **3) Pelaksanaan penelitian Inokulasi Salmonella-Shigella**

Inokulasi *Salmonella-Shigella* dilaksanakan pada tempat yang steril secara aseptik, dengan cara menyemprotkan alkohol 70% dengan semprotan tangan di sekitar tempat bekerja. 1 gram sampel dilarutkan dengan larutan fisiologis (NaCl 0,85%) sebanyak 50 mL dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi larutan fisiologis 9 mL. 1 mL dari campuran tersebut dimasukkan lagi ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi larutan fisiologis 9 mL. Ambil 1 mL dari masing-masing tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri berisi medium SSA.

### **4) Pengamatan bakteri**

Setelah 2x24 jam diamati pertumbuhan koloni pada medium SSA. Medium SSA adalah medium selektif, sehingga koloni yang tumbuh dapat dinyatakan sebagai koloni *Salmonella-Shigella* saja. Untuk konfirmasi hasil, dilakukan perhitungan

dengan *coloni counter* dan pewarnaan gram pada koloni bakteri *Salmonella-Shigella*, di mana kedua bakteri ini adalah bakteri gram negatif, bakteri jenis ini akan memberikan respon berwarna merah. *Salmonella* berbentuk basil dan *Shighella* berbentuk kokobasil (Jawet, 1996).

Cara pewarnaan gram adalah sebagai berikut : pertama bersihkan kaca objek dengan alkohol, ambil *Salmonella-Shigella* yang diduga berada pada medium SSA, letakkan di atas kaca objek dan biarkan sampai kering di udara dan fiksasi dengan panas menggunakan lampu spiritus. Setelah kering, beri larutan kristal violet sebanyak 2-3 tetes dan diamkan lebih kurang 1 menit, cuci dengan air mengalir dan keringkan. Kemudian ditetesi dengan iodium (lugol) dan biarkan lebih kurang 1 menit, cuci dengan air mengalir dan keringkan. Selanjutnya diberi alkohol 70%, cuci dengan air mengalir dan keringkan. Selanjutnya warnai dengan safranin diamkan selama 45 detik, cuci dengan air dan keringkan. Amati di bawah mikroskop.

## **F. Teknik Analisis Data**

### **1. Rendemen Ekstrak**

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah berat ekstrak berupa pasta (g)}}{\text{Jumlah berat kering (g)}} \times 100\%$$

## 2. Uji Fitokimia

Analisis fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam tiap pelarut dari ekstrak *Sargassum duplicatum*. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji steroid/triterpenoid, saponin, dan flavonoid. Metode analisis ini didasarkan pada uji positif yaitu perubahan warna maupun bentuk larutan yang terjadi.

## 3. Uji Total Fenolat

Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 805 nm. Asam galat digunakan sebagai standar dengan konsentrasi 10, 15, 25, dan 50 ppm. Kandungan total fenol diinterpretasikan sebagai milligram ekivalen asam galat (GAE = *Galic Acid Equivalent*) per 100 g sampel (mg GAE/100 g sampel).

## 4. Uji Antioksidan

Data hasil absorbansi masing-masing sampel digunakan untuk mencari % inhibisinya. Perhitungan yang digunakan adalah:

$$\% \text{ inhibisi} : \frac{A_{Blanko} - A_{Sampel}}{A_{Blanko}} \times 100\%$$

$A_{blanko}$  = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

$A_{Sampel}$  = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

Hasil perhitungan persen (%) inhibisi disubstitusikan ke dalam persamaan linear  $Y = aX + b$

$Y$  = % Inhibisi  $a$  = Gradien

$X$  = Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )  $b$  = Konstanta

Persamaan linear yang dihasilkan digunakan untuk memperoleh nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi yang diperoleh pada saat % inhibisi sebesar 50 dari persamaan  $Y = aX + b$ .

Pada saat % Inhibisi = 50, maka untuk menghitung nilai  $IC_{50}$  persamaannya menjadi:

$$50 = aX + b$$

$$X = \frac{50 - b}{a}$$
 Harga X adalah  $IC_{50}$  dengan satuan  $\mu\text{g/ml}$

## 5. Uji Antimikroba

Pengamatan bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan gram pada koloni bakteri *Salmonella-Shigella*. Data dianalisis secara deskriptif dengan mengamati keberadaan *Salmonella-Shigella* yang telah diberi penambahan ekstrak rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh).

## BAB IV

### DESKRIPSI DAN ANALISIS DATA

#### A. Deskripsi Data

##### 1. Sampel Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) yang diperoleh dari perairan Teluk Awur di Kecamatan Tahunan, Jepara. Rumput laut jenis ini keberadaannya sangat melimpah namun belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar.

*Sargassum* adalah jenis alga cokelat yang mempunyai bentuk *thallus* umumnya silindris atau gepeng dan berwarna cokelat, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong atau seperti pedang. *Sargassum* mempunyai gelembung udara dan panjangnya mencapai 7 meter.<sup>1</sup> *Sargassum* merupakan bagian dari kelompok rumput laut coklat (Phaeophyceae) dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae*.

---

<sup>1</sup>L. M. Aslan, *Budidaya Rumput Laut*, (Yogyakarta: Kanisius, 1991), hlm. 30



Gambar 4.1. Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)<sup>2</sup>  
(Sumber: Data Pribadi tanggal 27 Februari 2015)

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah pengambilan sampel (rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh). Pengambilan sampel ini dilakukan pada saat surut. Rumput laut yang telah diambil diberi label dan disimpan dalam *coolbox* yang telah berisi es batu untuk menjaga kesegaran rumput laut selama perjalanan menuju laboratorium. Preparasi rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) dimulai dengan proses pencucian, pengeringan dan penggilingan. Rumput laut segar dicuci dengan menggunakan air tawar. Sampel dikeringkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama  $\pm$  10 hari. Rumput laut yang telah kering dihaluskan dan dimasukkan ke dalam kantong plastik kemudian ditimbang sebanyak 150 gram dengan

---

<sup>2</sup> W. S. Atmadja, dkk., *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia*. (Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi LIPI, 1996), hlm. 67.

timbangan analitik. Sampel kemudian disimpan dalam kondisi kering untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.

## **2. Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

Ekstraksi merupakan metode pemisahan komponen-komponen tertentu antara dua atau lebih fase cairan. Ekstraksi didefinisikan sebagai proses penarikan komponen yang diinginkan dari suatu bahan dengan cara pemisahan satu atau lebih komponen dari bahan tersebut.<sup>3</sup> Rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) diekstraksi dengan metode maserasi (ekstraksi cara dingin). Sampel rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) sebanyak 150 gram dimaserasi dengan metanol sebanyak 1100 mL selama 48 jam dan diaduk beberapa kali serta dengan bantuan alat *steering magnetic*.

Hasil ekstrak kasar yang diperoleh ialah sebanyak 9,46 gram dengan warna coklat-kehitaman. Rendemen yang dihasilkan sebesar 6,3%. Ekstrak ini kemudian dibagi menjadi dua sampel. Sampel yang pertama merupakan ekstrak tanpa perlakuan (R.1). Sampel yang

---

<sup>3</sup> AIM Keulemans dan Walraven JJ, *Practical Instrumental Analysis*, (New York: Elsevier Publishing Company, 1965), dalam skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 5.

kedua merupakan ekstrak yang diberi proses pemanasan selama 45 menit diatas water bath sampai mendidih (R.2).

### **3. Bioaktif dalam Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

Komponen bioaktif merupakan kelompok senyawa fungsional yang terkandung dalam bahan pangan dan dapat memberikan pengaruh biologis. Komponen bioaktif sebagian besar adalah kelompok alkohol aromatik seperti polifenol dan komponen asam (*phenolic acid*). Komponen bioaktif tidak terbatas pada hasil metabolisme sekunder saja, tetapi juga termasuk metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional.<sup>4</sup> Pengujian kualitatif terhadap komponen bioaktif ini dapat dilakukan dengan metode uji fitokimia.

Uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji flavonoid, steroid atau triterpenoid, dan saponin.

---

<sup>4</sup>Elis Permatasari, *Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada selada air (*Nasturtium officinale* L. R. Br)*, Skripsi, (Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 13.

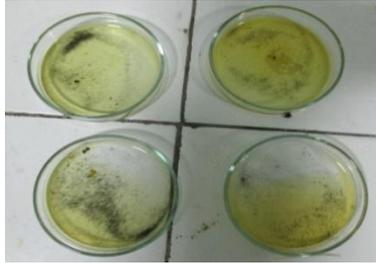
Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia ekstrak Rumput laut  
(*Sargassum duplicatum* J. Agardh)

Nomor	Uji Fitokimia	Tanpa Pemanasan (R.1)	Dengan Pemanasan (R.2)	Warna (standar)
1.	Flavonoid	1. +	1. +	Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau
		2. +	2. +	
2.	Saponin	1. -	1. -	Terbentuk busa
		2. -	2. -	
3.	Steroid/ Triterpenoid	1. +	1. +	Perubahan merah menjadi biru/hijau
		2. +	2. +	

Secara umum komponen fitokimia yang terdapat dalam ekstrak *S. duplicatum* J. Agardh adalah senyawa flavonoid dan steroid/triterpenoid.

### 3.1 Flavonoid

Ekstrak *S. duplicatum* J. Agardh pada uji ini mengandung senyawa flavonoid dengan intensitas yang cukup tinggi. Hasil pengujian ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah dan kuning pada lapisan amil alkohol yang kuat. Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Rumput Laut *S. duplicatum* J. Agardh  
(Sumber: Data Pribadi tanggal 25 Maret 2015)

Intensitas flavonoid pada pelarut metanol menunjukkan bahwa komponen flavonoid yang ada pada ekstrak *S. duplicatum* J. Agardh memiliki kandungan flavonoid. Hal ini diduga karena flavonoid tersebut berikatan dengan gula sebagai glikosida, sehingga flavonoid dapat larut pada pelarut semi polar.<sup>5</sup>

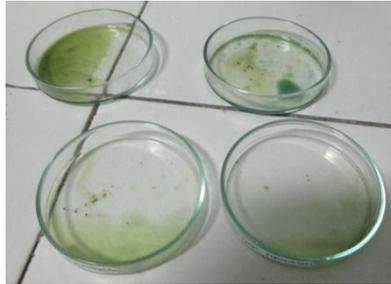
### 3.2 Steroid

Uji steroid pada *S. duplicatum* J. Agardh yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan bahwa komponen steroid terdeteksi pada ekstrak kasar *S. duplicatum* J. Agardh dengan intensitas yang cukup kuat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa sampel positif mengandung steroid. Warna campuran dari yang

---

<sup>5</sup>Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 35.

berwarna merah berubah menjadi warna kehijauan. Hasil uji steroid dapat dilihat pada Gambar 4.3.



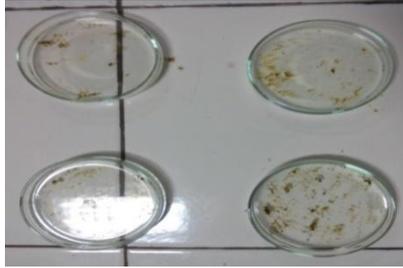
Gambar 4.3. Hasil Uji Steroid Ekstrak Rumput Laut *S. duplicatum* J. Agardh  
(Sumber: Data Pribadi tanggal 25 Maret 2015)

### 3.3 Saponin

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan senyawa saponin pada ketiga ekstrak *S. duplicatum* J. Agardh bernilai negatif yaitu tidak terbentuknya busa pada campuran. Hal ini mengidentifikasi bahwa komponen saponin tidak terkandung dalam *S. duplicatum* J. Agardh. Hal ini berbeda dengan penelitian Aisyah dan Ari (2012) yang mengidentifikasi adanya senyawa flavonoid, saponin, dan terpenoid ekstrak *S. duplicatum*.<sup>6</sup> Hasil uji saponin dapat dilihat pada Gambar 4.4.

---

<sup>6</sup> Aisyah Tri Setiana dan Ari Asnani, *Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat Sargassum duplicatum Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi, Skripsi*, (Purwokerto: Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman, 2012), hlm. 27.



Gambar 4.4. Hasil Uji Saponin Ekstrak Rumput Laut *S. duplicatum* J. Agardh (Sumber: Data Pribadi tanggal 25 Maret 2015)

#### 4. Kadar Total Fenolat dalam Ekstrak Kasar Rumput Laut *S. duplicatum* J. Agardh

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV.<sup>7</sup>

Langkah pertama pada uji total fenol ini ialah dengan mencari  $\lambda_{\text{maks}}$  (805 nm) untuk pengukuran sampel dan asam galat. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 805 nm. Asam galat digunakan sebagai standar dengan konsentrasi 10, 15, 25, dan 50 ppm. Kandungan total fenol diinterpretasikan sebagai

---

<sup>7</sup> JB Harborne, "Metode Fitokimia...", dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, "Aktivitas Antioksidan..." hlm. 37.

milligram ekivalen asam galat (GAE = *Galic Acid Equivalent*) per 100 g sampel (mg GAE/100 g sampel). Pada sampel R.1 dihasilkan absorbansi sebesar 0,216 A dan konsentrasi asam galat sebesar 25,57 mg/L dengan total fenolat 9168 (mg GAE/100 g ekstrak). Pada sampel R.2 dihasilkan absorbansi sebesar 0,174 A dan konsentrasi asam galat sebesar 19,71 mg/L dengan total fenolat 7016 (mg GAE/100 g ekstrak).

#### **5. Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Pada umumnya terdapat dua kategori dasar dari antioksidan yaitu natural dan sintetis.<sup>8</sup> Keberadaan senyawa antioksidan dalam suatu bahan dapat dideteksi dengan melakukan uji antioksidan.

Metode uji DPPH merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk memperkirakan efisiensi kinerja dari substansi yang berperan sebagai antioksidan. Metode pengujian ini berdasarkan pada

---

<sup>8</sup>Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 51.

kemampuan substansi antioksidan tersebut dalam menetralsir radikal bebas. Radikal bebas yang digunakan adalah 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Radikal bebas DPPH merupakan radikal sintetik yang stabil pada suhu kamar dan larut dalam pelarut polar yaitu metanol dan etanol. Sifat stabil ini dikarenakan radikal bebas ini memiliki satu elektron yang didelokalisasi dari molekul utuhnya, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas lain. Delokalisasi ini akan memberikan sebuah warna ungu gelap dengan absorbansi maksimum pada 517 nm dalam larutan etanol ataupun metanol.<sup>9</sup>

Langkah pertama yang dilakukan pada uji antioksidan adalah pembuatan larutan DPPH dengan konsentrasi 100 µg/ml. Larutan DPPH 100 µg/ml diambil sebanyak 1 ml dan ditambah 3 ml metanol *p.a* dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 30 menit, kemudian dilakukan optimasi panjang gelombang DPPH. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang optimum karena kepekaannya maksimal sehingga hukum Lambert-Beer akan terpenuhi. Panjang gelombang optimum dari DPPH berdasarkan

---

<sup>9</sup> Philip Molyneux, *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*hlm, Songklanakar J. Sci. Technol., 2004, 26(2), hlm. 212-213

penelusuran literatur berkisar antara 515-520 nm. Optimasi panjang gelombang dilakukan karena peralatan yang digunakan berbeda dengan literatur yang dapat menyebabkan perbedaan serapan maksimum. Hasil pengukuran absorpsi optimum DPPH diperoleh pada panjang gelombang 515 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sampel R.1 menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 143,03  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan pada sampel R.2 menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 357,95  $\mu\text{g/mL}$ .

#### **6. Aktivitas Antibakteri pada Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

Senyawa antibakteri didefinisikan sebagai senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Syarat penting kualitas produk asal hewan adalah bebas patogen mikrobiologi termasuk *Salmonella* dan *Shigella*. *Salmonella* merupakan bakteri gram negatif berbentuk basil, tidak berspora, panjangnya bervariasi, dan kebanyakan spesies bergerak dengan flagel peritrik. *Shigella* juga merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk kokobasil, bersifat fakultatif anaerob tetapi paling baik tumbuh secara aerob.

Koloninya konveks, bulat, transparan dengan pinggir utuh, mencapai kira-kira 2 mm dalam waktu 24 jam.<sup>10</sup>

*Salmonellosis* adalah penyakit yang disebabkan *Salmonella*. Penyakit ini dapat menyerang unggas, hewan mamalia dan manusia, sehingga memiliki arti penting bagi manusia. Penyakit ini dapat terjadi akibat mengkonsumsi makanan/air yang tercemar *Salmonella*. *Salmonellosis* merupakan penyakit yang bisa berasal dari telur yang terkontaminasi oleh *Salmonella* dengan gejala seperti mual-mual, muntah, sakit perut, sakit kepala, kedinginan, demam, dan diare. Bakteri ini dapat mengkontaminasi telur sewaktu masih dalam indung telur ayam, tetapi yang paling sering terjadi adalah setelah telur dikeluarkan, terutama apabila kebersihan kandang dan lingkungan kurang diperhatikan.<sup>11</sup>

Pengamatan bakteri dilakukan melalui metode pewarnaan gram yang kemudian dihitung di

---

<sup>10</sup> Jawet, dkk., *Mikrobiologi Kedokteran*, (Jakarta: Salemba Medica, 1996) dalam skripsi Nurul Afifah, *Uji Salmonella-Shigella pada Telur Ayam yang Disimpan pada Suhu dan Waktu yang Berbeda*, (Riau: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasir Pengaraian, 2013), hlm.3.

<sup>11</sup> Nurul Afifah, *Uji Salmonella-Shigella pada Telur Ayam yang Disimpan pada Suhu dan Waktu yang Berbeda*, skripsi, (Riau: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasir Pengaraian, 2013), hlm.4.

mikroskop pada koloni bakteri *Salmonella-Shigella*. Data dianalisis secara deskriptif dengan mengamati keberadaan *Salmonella-Shigella* yang telah diberi penambahan ekstrak rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh). Hasil uji menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh sebesar 1,20 mm dan 1,15 mm, Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol.

## **B. Analisis Data**

### **1. Sampel Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

Tahap pertama dalam penelitian ini yaitu preparasi sampel. Rumput laut segar yang diambil langsung dari laut kemudian dicuci dengan menggunakan air tawar untuk menghilangkan kotoran, lumut, lumpur dan pasir. Sampel dikeringkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari secara langsung selama  $\pm$  10 hari dalam suhu kamar sampai kering. Perlakuan ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan air tanpa merusak kandungan senyawa metabolit sekunder di dalamnya jika terkena panas matahari.<sup>12</sup>

---

<sup>12</sup>Ahmad Fuad Masduqi, dkk., *Efek Metode Pengeringan Terhadap Kandungan Bahan Kimia Dalam Rumput Laut Sargassum polycystum*,

Proses pengeringan dapat membuat rumput laut menjadi lebih mudah untuk dihancurkan, sehingga penghalusan juga menjadi lebih mudah. Pengeringan merupakan proses pengurangan kadar air sampai batas terbaik, yaitu 8-10%, karena pada tingkat kadar air tersebut, sampel terhindar dari pencemaran yang disebabkan oleh jamur, bakteri dan insekstisida.<sup>13</sup> Proses pengeringan yang mengurangi kadar air ini nantinya juga dapat berguna dalam proses evaporasi.<sup>14</sup>

Rumput laut yang telah kering dihaluskan dengan cara diblender tanpa pelarut. Penghalusan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan. Sampel yang halus ini akan mengalami kontak langsung dengan pelarut, sehingga semakin besar luas permukaan, maka akan lebih banyak komponen bioaktif yang dapat terekstrak. Penghalusan ini kemudian akan memecah sel-sel yang terdapat dalam jaringan, sehingga komponen yang akan diekstrak dapat cepat keluar dari bahan yang akan

---

(Semarang: Program Studi Magister Biologi Fakultas Sains dan Matematika Undip, 2013), hlm.1.

<sup>13</sup> Gerlinda Ridwina, *Perbandingan Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Lempuyang Gajah, Skripsi*, (Bogor : Institut Pertanian Bogor, 2008), hlm. 5.

<sup>14</sup> Sabri Sudirman, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen bioaktif kangkung air (ipomoea aquatica forsk.)*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 51.

mempercepat proses ekstraksi.<sup>15</sup> Sampel yang telah halus dibawa ke laboratorium kimia Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan. Sampel disimpan di dalam wadah kemudian dilakukan penimbangan sebanyak 150 gram untuk proses ekstraksi. Keterangan lebih rinci mengenai perlakuan awal pada sampel bisa dilihat pada lampiran I.

## **2. Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

Tahap selanjutnya adalah ekstraksi bahan aktif. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi tunggal yang mengacu pada Quinn (1988) dalam Darusman *et al.* (1995).<sup>16</sup> Rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) diekstraksi dengan metode maserasi (ekstraksi cara dingin). Metode ini dipilih karena dapat mencegah terurainya metabolit yang tidak tahan pemanasan. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut tunggal yaitu dengan pelarut Metanol. Pelarut Metanol memiliki titik didih sebesar

---

<sup>15</sup> Sabri Sudirman, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen...* hlm. 50

<sup>16</sup> Darusman LK, dkk., *Ekstraksi komponen bioaktif sebagai bahan obat dari karang-karang, bunga karang dan ganggang laut di perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu*, *Buletin kimia*, (Bogor: Institut Pertanian Bogor, 1995), dalam skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor 2012), hlm. 20.

64,7 °C pada tekanan 760 mmHg.<sup>17</sup> Hasil penelitian terdahulu menyebutkan bahwa ekstraksi dengan menggunakan Metanol memiliki hasil rendemen tertinggi karena banyak komponen bioaktif yang larut dengan pelarut Metanol. Metanol memiliki hasil rendemen yang paling maksimal untuk ekstraksi rumput laut.<sup>18</sup>

Sampel rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh) sebanyak 150 gram dimaserasi dengan metanol sebanyak 1100 mL selama 48 jam dan diaduk beberapa kali serta dengan bantuan alat *steering magnetic*. Pengadukan ini bertujuan untuk memperbesar kemungkinan tumbukan antara bahan pelarut dengan senyawa bioaktif yang dapat terlarut ke dalam pelarut tersebut dan juga pelarut yang digunakan berdifusi ke dalam sel untuk melarutkan senyawa yang terkandung didalamnya dan larutan melewati dinding sel serta bercampur dengan cairan di sekitarnya sehingga terbentuk kesetimbangan.<sup>19</sup> Hasil ekstrak yang diperoleh

---

<sup>17</sup> <http://id.wikipedia.org/wiki/Metanol>, diakses 31 Maret 2015

<sup>18</sup> Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 62.

<sup>19</sup> Dewi Murni, *Isolasi Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan Artemia salina Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Asa Tunga (Lithocarpus Celebicus (Miq) Rehder)*, Skripsi, (Jakarta: Universitas Indonesia, 2012), hlm.50

akan sangat bergantung pada beberapa faktor, yaitu kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut dan sampel.<sup>20</sup>



Gambar 4.5. Ekstrak kasar Rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)  
(Sumber: Data Pribadi tanggal 24 Maret 2015)

Filtrat yang diperoleh ditampung dan diuapkan dengan alat *rotary vaccum evaporator* pada suhu 50 °C hingga metanol menguap seluruhnya. Alat ini bekerja berdasarkan prinsip diagram fase air, yaitu ketika tekanan udara diturunkan, maka titik didih akan turun. Tekanan yang digunakan adalah tekanan *vacuum* (500 mmHg), sehingga suhu  $\pm 50^{\circ}\text{C}$  dapat digunakan untuk menguapkan pelarut. Kondisi demikian merupakan kondisi yang diinginkan. Hal ini karena pada saat kondisi tersebut lebih dari 95% kandungan nutrisi, vitamin,

---

<sup>20</sup> Sabri Sudirman, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen...55-58*

*ferment*, dan komponen bioaktif lainnya dapat terselamatkan.<sup>21</sup>

Penggunaan vakum memungkinkan pelarut dapat menguap pada suhu rendah. Kadar air yang telah berkurang saat pengeringan berguna dalam proses evaporasi, yaitu jika air masih terkandung di dalamnya, maka akan sangat sukar dan lama untuk dipisahkan dengan menggunakan pemanasan suhu rendah karena memiliki titik didih lebih tinggi daripada pelarut. Pemanasan yang dilakukan menggunakan suhu tinggi, yaitu suhu 100° C, tekanan 1 atm (760 mmHg), dikhawatirkan akan merusak komponen bioaktif yang memiliki sifat sebagai antioksidan karena panas.<sup>22</sup>

Hasil ekstrak kasar yang diperoleh ialah sebanyak 9,46 gram dengan warna cokelat-kehitaman. Ekstrak ini kemudian dibagi menjadi dua sampel. Sampel yang pertama merupakan ekstrak tanpa perlakuan (R.1). Sampel yang kedua merupakan ekstrak yang diberi proses pemanasan selama 45 menit diatas water bath sampai mendidih (R.2).

### **3. Bioaktif dalam Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

---

<sup>21</sup> Sabri Sudirman, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen...*58-60

<sup>22</sup> Sabri Sudirman, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen...*51

Komponen bioaktif merupakan kelompok senyawa fungsional yang terkandung dalam bahan pangan dan dapat memberikan pengaruh biologis. Sebagian besar komponen bioaktif adalah kelompok alkohol aromatik seperti polifenol dan komponen asam (*phenolic acid*). Pengujian kualitatif terhadap komponen bioaktif ini dapat dilakukan dengan metode uji fitokimia. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay*.<sup>23</sup> Uji fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid. Hasilnya menunjukkan bahwa sampel R.1 dan R.2 positif mengandung senyawa flavonoid dan steroid. Senyawa fenol inilah yang merupakan salah satu senyawa bioaktif tanaman yang bersifat sebagai antimikroba.<sup>24</sup> Grup yang paling penting

---

<sup>23</sup> JB Harborne, "Metode Fitokimia...", dalam Tesis Ristyana Ika Putranti, "Skrining Fitokimia...", hlm.15.

<sup>24</sup> Midian Sirait, *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, (Bandung: Institut Teknologi Bandung, 2007), dalam skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor 2012), hlm. 47.

dari senyawa fenolik adalah senyawa flavonoid. Flavonoid sangat efektif digunakan sebagai antioksidan.<sup>25</sup>

#### **4. Kadar Total Fenolat dalam Ekstrak Kasar Rumpuk Laut *S. duplicatum* J. Agardh**

Penelitian ini menggunakan metode *Follin-Ciocalteu* untuk mengukur total fenol yang terdapat dalam ekstrak *S. duplicatum* J. Agardh. Prinsip kerja metode *Follin-Ciocalteu* ini adalah reaksi antara senyawa fenol dengan reagen Folin-Ciocalteu. Reaksi ini melibatkan oksidasi gugus fenolik (ROH) dengan campuran asam fosfotungstat ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) asam molibdat ( $H_3Pm_{12}O_{40}$ ) dalam reagen, menjadi bentuk quinoid (R=O). Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran dikarenakan asam galat merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua tanaman. Kandungan fenol asam organik ini bersifat murni dan stabil.<sup>26</sup>

Pengujian total fenol ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fenolat yang ada pada ekstrak rumput laut *S.duplicatum* J. Agard. Asam galat digunakan sebagai standar dengan konsentrasi 10, 15, 25,

---

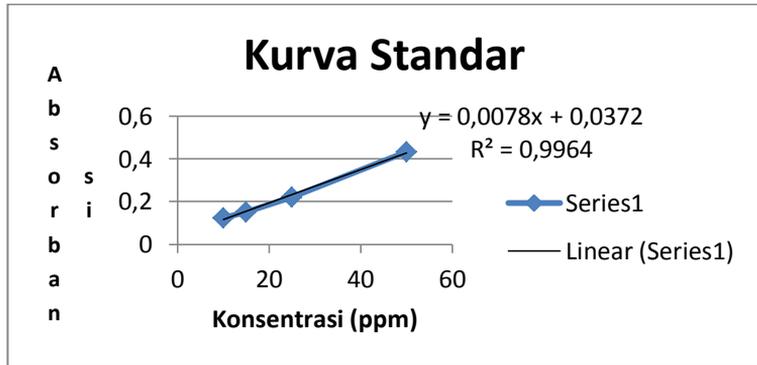
<sup>25</sup> JB Harborne, "Metode Fitokimia...", dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, "Aktivitas Antioksidan..." hlm. 37.

<sup>26</sup> RW., Kusumaningati, *Analisis kandungan fenol total jahe (Zingiber officinale Roscoe) secara in vitro, skripsi*, (Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, 2009), hlm.25.

dan 50 ppm. Blanko yang digunakan dalam uji ini ialah aquades. Kandungan total fenol dihitung dengan memasukkan nilai serapan sampel pada panjang gelombang 805 nm ke dalam persamaan garis regresi linier  $y = ax + b$  yang diperoleh dari kurva kalibrasi asam galat. Hasil dinyatakan dalam satuan mg ekuivalen asam galat (GAE = *Galic Acid Equivalent*) per 100 g sampel (mg GAE/100 g sampel). Pengujian total fenol sangat tergantung pada struktur kimianya. Senyawa fenol yang mempunyai gugus fungsi hidroksil yang banyak atau dalam kondisi bebas akan menghasilkan kadar total fenol yang tinggi.

Kurva standar, seperti pada Gambar 4.6, dibuat sebagai pembanding ekuivalen senyawa fenolat yang terdapat dalam ekstrak rumput laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh), dengan demikian kurva tersebut berguna dalam membantu menentukan kadar fenolat total. Penelitian terhadap larutan standar asam galat menghasilkan persamaan regresi  $y = 0,0078x + 0,0372$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9964. Koefisien determinasi merupakan angka yang nilainya berkisar antar 0 sampai 1 yang menunjukkan seberapa dekat nilai perkiraan untuk analisis regresi yang mewakili data yang sebenarnya. Analisis regresi paling dapat dipercaya jika nilai  $R^2$ -nya sama dengan atau mendekati

1. Nilai  $R^2$  pada kurva tersebut 0,9964 sehingga dapat digunakan dalam perhitungan kadar.



Gambar 4.6. Kurva Standar Asam Galat

Tabel 4.2 Hasil analisis fenolat total dalam ekstrak (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)

<b>Ekstrak Metanol</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Konsentrasi Asam Galat (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Kandungan Fenolat Total (mg Asam Galat Ekuivalen tiap 100 g ekstrak)</b>
<b>Tanpa Pemanasan</b>	0,216	22,92	9168
<b>Dengan Pemanasan</b>	0,174	17,54	7016

Hasil penelitian pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa dalam ekstrak rumput laut tersebut terdapat total fenolat. Keberadaan total fenolat ini menurun seiring dengan pemanasan yang dilakukan pada sampel. Pemanasan pada sampel secara tidak langsung mengurangi kadar fenolat karena senyawa-senyawa bioaktif yang ada di dalam ekstrak rumput laut juga ikut rusak. Senyawa-senyawa fenolat ini memberi kontribusi terhadap aktivitas antimikroba.<sup>27</sup> Senyawa fenolik ini juga merupakan salah satu jenis antioksidan dalam bahan pangan. Senyawa fenolik terbukti sebagai sumber antioksidan yang efektif, penahan radikal bebas, dan pengkelat ion-ion logam. Aktivitas antioksidan senyawa fenolik berhubungan dengan senyawa fenol.<sup>28</sup>

##### **5. Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)**

Pengukuran absorbansi beberapa sampel dilakukan pada konsentrasi atau diencerkan 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm dengan pengulangan 2 kali. Pengenceran ini bertujuan untuk memperluas jangkauan

---

<sup>27</sup> Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 49.

<sup>28</sup> MS. Meskin, dkk., *Phytochemical in nutrition health*, (London: CRC, 2002), hlm. 145.

konsentrasi dengan rentan yang konstan sehingga titik-titik persimpangan dapat disubstitusikan sebagai persamaan linear secara akurat, sehingga nantinya  $IC_{50}$  dapat diperoleh dari persamaan tersebut.<sup>29,30</sup>

Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas DPPH dipilih karena metode ini sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel, akan tetapi jumlah pelarut pengencer yang diperlukan dalam pengujian ini cukup banyak. Pelarut yang digunakan adalah metanol. Metanol dipilih sebagai pelarut karena metanol dapat melarutkan kristal DPPH dan juga memiliki sifat yang dapat melarutkan komponen non polar di dalamnya.<sup>31</sup>

Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH yang ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat. Penangkapan radikal bebas tersebut

---

<sup>29</sup> Sabri Sudirman, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen...*37-38

<sup>30</sup> Dewi Murni, *Isolasi Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan Artemia salina Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Asa Tungga [Lithocarpus celebicus (Miq.)Rehder*, (Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Sarjana Farmasi, 2012) ,hlm.61

<sup>31</sup> Philip Molyneux, *The use of the stable free radical,*...hlm. 215

mengakibatkan ikatan rangkap diazo pada DPPH berkurang sehingga terjadi penurunan absorbansi.<sup>32</sup>

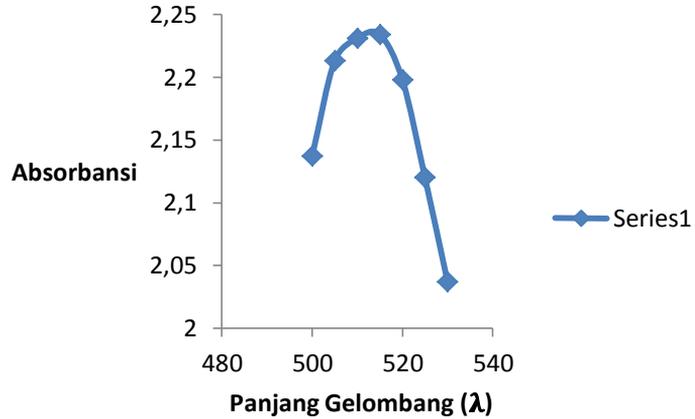
Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji dilaporkan sebagai IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> merupakan salah satu parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian DPPH. Nilai IC<sub>50</sub> ini dapat didefinisikan sebagai konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan berkurangnya 50% aktivitas DPPH. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi.<sup>33</sup>

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Data hasil pengukuran nilai absorbansi dan persen (%) inhibisi masing-masing ekstrak sampel dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan 4.4, sedangkan perhitungan persen (%) inhibisi lebih rinci dapat dilihat pada lampiran. Perhitungan persen (%) inhibisi dimulai dengan menentukan panjang gelombang maksimal ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) DPPH terlebih dahulu. Berdasarkan Gambar 4.7 diperoleh  $\lambda_{\text{maks}}$  sebesar 515 nm.

---

<sup>32</sup> Philip Molyneux, *The use of the stable free radical*,...hlm. 212

<sup>33</sup> Philip Molyneux, *The use of the stable free radical*,...hlm. 214

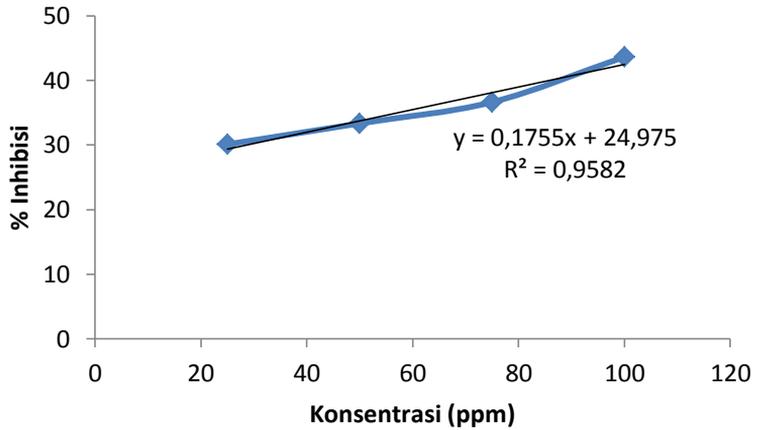


Gambar 4.7 Panjang gelombang maksimal ( $\lambda_{maks}$ )

Tabel 4.3 Absorbansi dan persen (%) Inhibisi pada sampel R.1

No	Konsentrasi (ppm)	R.1 Ulangan 1			R.1 Ulangan 2			Rata-rata % Inhibisi
		A DPPH	A Sampel	% Inhibisi	A DPPH	A Sampel	% Inhibisi	
1.	25	0,675	0,471	30,22	0,676	0,473	30,03	30,12
2.	50	0,688	0,459	33,28	0,688	0,458	33,43	33,36
3.	75	0,647	0,410	36,63	0,649	0,411	36,67	36,65
4.	100	0,664	0,375	43,52	0,667	0,375	43,79	43,65

Berdasarkan data tabel 4.3 dapat disubstitusikan ke dalam persamaan linear  $Y = aX + b$ . Persamaan linear dapat di lihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Grafik persen (%) Inhibisi ekstrak metanol pada sampel R.1

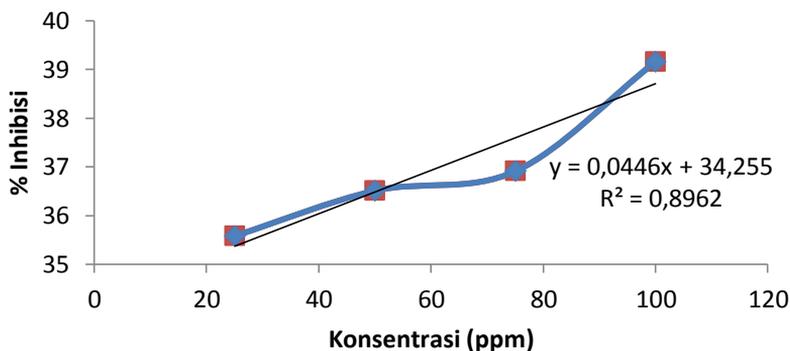
Persamaan linearnya adalah,  $y = 0,175x + 24,97$

$$IC_{50} = \frac{50 - 24,97}{0,175} = 143,03 \mu\text{g/mL}$$

Tabel 4.4 Absorbansi dan persen (%) Inhibisi pada sampel R.2

No	Konsentrasi (ppm)	R.2 Ulangan 1			R.2 Ulangan 2			Rata-rata % Inhibisi
		A DPP H	A Sampel	% Inhibisi	A DPP H	A Sampel	% Inhibisi	
1.	25	0,681	0,440	35,39	0,685	0,440	35,77	35,58
2.	50	0,691	0,439	36,47	0,692	0,439	36,56	36,51
3.	75	0,650	0,410	36,92	0,653	0,412	36,91	36,91
4.	100	0,656	0,400	39,02	0,659	0,400	39,30	39,16

Berdasarkan data tabel 4.4 dapat disubstitusikan ke dalam persamaan linear  $Y = aX + b$ . Persamaan linear dapat di lihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9. Grafik persen (%) Inhibisi ekstrak metanol pada sampel R.2

Persamaan linearnya adalah,  $y = 0,044x + 34,25$

$$IC_{50} = \frac{50 - 34,25}{0,044} = 357,95 \mu\text{g/mL}$$

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam  $IC_{50}$ . Berdasarkan hasil pengukuran nilai absorbansi dan persen (%) inhibisi dapat diperoleh nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing ekstrak metanol rumput laut *S. duplicatum* J.Agardh. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka akan semakin tinggi pula nilai persentase penghambatan aktivitas radikal bebas (persen inhibisi). Hal ini berkorelasi dengan total fenol yang terkandung dalam ekstrak *S. duplicatum* J.Agardh.<sup>34</sup>

Senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50  $\mu\text{g/ml}$ , kuat apabila

<sup>34</sup> Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan...*, hlm. 41.

nilai IC<sub>50</sub> antara 50-100 µg/ml, sedang apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 100-150 µg/ml, dan lemah apabila nilai IC<sub>50</sub> berkisar antara 150-200 µg/ml.<sup>35</sup> Berdasarkan hasil penelitian bahwa sampel R.1 termasuk kategori antioksidan yang sedang sedangkan sampel R.2 antioksidan yang sangat lemah.

Terjadi perbedaan nilai aktivitas antioksidan pada kedua sampel. Sampel R.1 mempunyai aktivitas yang lebih tinggi sedangkan sampel R.2 lebih rendah. Hal ini karena semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

Penurunan ini juga dikarenakan pemanasan yang dilakukan pada sampel R.2 sehingga terjadi kerusakan pada senyawa bioaktifnya. Hal ini berkorelasi dengan total fenol yang terkandung dalam ekstrak *S. duplicatum* J. Agardh. Hasil ini juga sesuai dengan penelitian Molyneux (2004) yang menyatakan bahwa jika di dalam suatu bahan memiliki konsentrasi senyawa fenol yang tinggi maka aktivitas antioksidan dalam bahan tersebut juga tinggi.<sup>36</sup>

---

<sup>35</sup> Azwin Apriandi, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong-Ipong (Fasciolaria salmo)*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 48.

<sup>36</sup> Philip Molyneux, *The use of the stable free radical*,...hlm. 213.

## 6. Aktivitas Antibakteri pada Ekstrak Kasar Rumput Laut (*Sargassum duplicatum* J. Agardh)

Uji antibakteri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa besar daya hambat ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh terhadap bakteri. Bakteri yang digunakan ialah *Salmonella sp.* Penggunaan bakteri ini karena cemaran mikroorganisme patogen yang biasa ada pada telur adalah bakteri jenis gram negatif yaitu *Salmonella sp.*<sup>37, 38</sup> Uji ini dilakukan dengan metode difusi agar *Salmonella-Shigella* Agar (SSA). Komposisinya medium ini terdiri dari *peptone, lab lemco/beef extract, laktosa, ox bile dried, sodium citrate, sodium thisulfat, ammonium iron (III) citrate, brilliant green, dan neutral red agar*, yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain, sehingga dapat dinyatakan dengan menggunakan medium selektif ini hanya *Salmonella-Shigella* yang tumbuh dan

---

<sup>37</sup> Sofi Mulya Anggraini, *Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuning Telur yang Ditambah Madu dengan Jenis dan Umur Telur yang Berbeda, Skripsi*, (Bogor: Departemen Ilmu Produksi Dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 6.

<sup>38</sup>F.G. Winarno, dan S. Koswara, *Telur: Komposisi, Penanganan dan Pengolahannya*, (Bogor: M - Brio Press, 2002), dalam Skripsi Sofi Mulya Anggraini, *"Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuning telur Yang Ditambah Madu Dengan Jenis dan Umur Telur Yang Berbeda*, (Bogor: Departemen ilmu produksi dan teknologi peternakan Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011), hlm. 6.

berkembangbiak.<sup>39</sup> Medium yang digunakan ialah *Salmonella-Shigella* Agar (SSA). Penggunaan medium ini karena mampu menghambat pertumbuhan mikroba lain, sehingga dapat dinyatakan dengan menggunakan medium selektif ini hanya *Salmonella-Shigella* yang tumbuh dan berkembang biak.<sup>40</sup>



Gambar 4.10. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh terhadap bakteri *Salmonella sp.* (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2

(Sumber: Data Laboratorium Ilmu Gizi dan Pangan UNIMUS tanggal 13 April 2015)

---

<sup>39</sup> Nurul Afifah, *Uji Salmonella-Shigella pada Telur...*, hlm. 40.

<sup>40</sup> Nurul Afifah, *Uji Salmonella-Shigella pada Telur Ayam yang Disimpan pada Suhu dan Waktu yang Berbeda, skripsi*, (Riau: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasir Pengaraian, 2013), hlm.40.

Tabel 4.5. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak metanol rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh terhadap bakteri *Salmonella sp.* (a) pengulangan 1, (b) pengulangan 2

	Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri (mm)	
	(a)	(b)
Kloramfenikol (kontrol)	10	10
Sampel	1,12	1,15

Pengamatan bakteri dilakukan dengan prinsip pewarnaan gram yang kemudian diukur di mikroskop. Hasil dari tabel 4.5 menunjukkan bahwa pada medium SSA yang telah ditambahkan dengan sampel mempunyai diameter zona hambat sebesar 1,12 mm dan 1,15 mm. Kontrol dalam uji ini digunakan Kloramfenikol 10 µg dengan diameter zona hambat 10 mm. Kriteria kekuatan antibakteri ialah jika diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Kriteria inilah yang digunakan dalam penelitian untuk menggolongkan daya hambat kontrol

dan bahan uji sampel.<sup>41</sup> Berdasarkan pengukuran diameter zona hambat ekstrak terhadap bakteri *Salmonella sp.*, menunjukkan bahwa daya antibakteri yang dimiliki ekstrak rumput laut ini lemah.

Kecilnya nilai zona hambat ekstrak ini kemungkinan disebabkan ekstrak flavonoid yang digunakan pada penelitian ini yang merupakan hasil proses ekstraksi dari pelarut metanol masih mengandung senyawa lain yang mungkin tidak bersifat antibakteri yang dapat mengganggu daya antibakteri flavonoid. Kurang efektifnya ekstrak metanol dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji diduga berkaitan dengan sifat metanol yang semi polar, sehingga hanya sedikit komponen bioaktif yang larut di dalamnya. Sabir (2005) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa senyawa flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan beberapa mekanisme yang berbeda, antara lain flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom dan

---

<sup>41</sup> W.W. Davis dan R.R. Stout, *Disc Plate Method of Microbiological Assay*, (USA: Journal Of Microbiology, 1971), dalam Jurnal D.S. Wewengkang, dkk, *Karakterisasi dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons Haliclona sp. dari Teluk Manado, Jurnal Lppm Bidang Sains dan Teknologi*, (Vol. 1 No. 1, 2014). hlm. 78-79.

lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.<sup>42</sup>

Senyawa steroid atau triterpenoid juga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa steroid atau triterpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri. Senyawa terpenoid mudah larut dalam lipid sifat inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri Gram positif dan sel bakteri Gram negatif.<sup>43</sup>

Senyawa antibakteri ini akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Perusakan membran sel pada bakteri ini berawal dari ion H<sup>+</sup> dari senyawa fenol dan turunannya yang akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini yang mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya

---

<sup>42</sup> Ardo Sabir, *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp terhadap Bakteri Streptococcus mutans (in vitro)*, *Majalah Kedokteran Gigi (Dent J)*, (Vol. 38, No. 3, 2005), hlm.140.

<sup>43</sup> K. Rosyidah, *Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi Mangifera casturi*, *Jurnal Alchemy*, (Vol. 1, No. 2, 2010), hlm. 68.

membran akan bocor dan bakteri akan mengalami penghambatan bahkan kematian.<sup>44</sup> Mekanisme senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroba dibagi menjadi beberapa cara, yaitu (1) mengubah permeabilitas membran sehingga dengan rusaknya membran akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel bakteri, (2) menyebabkan terjadinya denaturasi protein, (3) menghambat kerja enzim di dalam sel sehingga mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel bakteri, dan (4) merusak dinding sel mikroorganisme sehingga menyebabkan terjadinya lisis.<sup>45</sup>

## **7. Potensi Ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Pengawetan Telur Asin**

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh diujikan pada bakteri *Salmonella*

---

<sup>44</sup> Gilman, dkk., *The Pharmacological Basic Of The Raupetics*, (Pengamon Press Inc, 1991), dalam Jurnal Fahriya Puspita Sari dan Shofi Mukhtiana Sari, *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*, (Semarang: Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Undip, 2012), hlm. 6.

<sup>45</sup> MT Madigan, dkk., *Brock Biology of Microorganisms*, (USA: Prentice Hall International, 2004), dalam Skripsi Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum**, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 14.

*sp*<sup>46</sup>. Uji ini dilakukan dengan metode Difusi Agar karena dengan metode ini difusi ekstrak pada agar dalam cawan petri akan lebih baik. Berdasarkan metode Difusi Agar, aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter hambat ekstrak terhadap bakteri *Salmonella sp.*, yaitu daerah bening yang terbentuk di sekitar sumur (gambar 4.10). Nilai zona hambat pada ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh sebesar 1,20 mm dan 1,15 mm dengan kontrol positif yaitu Kloramfenikol 10 mm.

Kloramfenikol merupakan antimikroba komersial sebagai kontrol positif yang dapat menghambat bakteri uji (*Staphylococcus aureus*, termasuk *Salmonella sp.*). Senyawa bioaktif dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap mikroba apabila mempunyai nilai konsentrasi penghambatan mikroba yang terendah, tetapi mempunyai diameter penghambatan yang besar. Hasil uji aktivitas antibakteri pada Kloramfenikol menunjukkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh. Hal ini dikarenakan kloramfenikol merupakan senyawa antimikroba murni sedangkan ekstrak rumput laut *S.*

---

<sup>46</sup> Bakteri *Salmonella sp.* merupakan bakteri patogen dan menyebabkan terjadinya pembusukan pada telur, (Sofi Mulya Anggraini, *Kajian Sifat Fisik, Kimia ...*”, hlm. 6).

*duplicatum* J. Agardh masih berupa ekstrak kasar yang mengandung bahan organik selain antibakteri.<sup>47</sup>

Tujuan dilakukannya uji antibakteri ini ialah untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antibakteri ekstrak kasar terhadap bakteri *Salmonella sp.* Hasil uji ini juga memberikan pengertian jika memang ekstrak ini memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Salmonella sp.*, maka ekstrak ini dapat diaplikasikan ke metode pengawetan telur asin. Hal ini menunjukkan bahwa jika ekstrak kasar ini ditambahkan pada telur asin maka akan meningkatkan daya simpannya. Prinsip kerjanya yaitu dengan adanya sifat antibakteri yang dimiliki ekstrak maka akan menghambat pertumbuhan bakteri penyebab pembusukan pada telur asin sehingga membuat telur bertahan lebih lama.

Kecilnya nilai zona hambat ekstrak ini kemungkinan disebabkan ekstrak yang digunakan pada penelitian ini yang merupakan hasil proses ekstraksi dari pelarut metanol masih mengandung senyawa lain yang dapat mengganggu daya antibakteri flavonoid. Namun, lemahnya daya antibakteri ini belum dapat sepenuhnya

---

<sup>47</sup> Mawaddah Renhoran, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum polycystum*, Skripsi, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012), hlm. 49.

memberikan arti bahwa ekstrak ini tidak dapat diterapkan sebagai pengawet alami pada telur asin.

Keberadaan senyawa golongan fenolik pada ekstrak kasar seperti flavonoid dan steroid yang bersifat sebagai antibakteri, menunjukkan bahwa ekstrak kasar rumput laut ini berpotensi sebagai antibakteri. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona hambat terhadap bakteri *Salmonella sp.* pada ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh. Hal ini berimplikasi bahwa ekstrak kasar rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai alternatif pengawet alami pada telur asin.

### **C. Keterbatasan Penelitian**

Penelitian ini masih terbatas pada pengujian terhadap beberapa kandungan yang dimiliki oleh ekstrak rumput laut dengan spesies *Sargassum duplicatum* J. Agardh. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengaplikasikan ekstrak tersebut terhadap telur asin, sehingga diketahui dengan pasti seberapa besar pengaruh penambahan ekstrak rumput laut tersebut terhadap daya simpan telur asin. Keterbatasan penelitian ini juga terletak pada penggunaan pelarut metanol untuk proses ekstraksi. Variasi pelarut dan jumlah ekstrak yang digunakan perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil yang lebih maksimal.

## BAB V

### PENUTUP

#### A. Kesimpulan

1. Ekstrak kasar dibagi menjadi dua, yaitu sampel R.1 dan sampel R.2. Sampel R.1 merupakan sampel tanpa perlakuan dan sampel R.2 merupakan sampel dengan perlakuan pemanasan selama 45 menit di waterbath hingga suhu 100 °C. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub>. Sampel R.1 menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 143,03 µg/mL, sedangkan pada sampel R.2 menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 357,95 µg/mL. Sampel R.1 termasuk kategori antioksidan yang sedang sedangkan sampel R.2 antioksidan yang sangat lemah.
2. Ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh aktif sebagai antibakteri. Hal ini terlihat dari nilai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* Hasil menunjukkan bahwa diameter zona hambat uji aktivitas antimikroba ekstrak metanol rumput laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh sebesar 1, 20 mm dan 1,15 mm, Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol.
3. Keberadaan senyawa golongan fenolik pada ekstrak kasar seperti flavonoid dan steroid yang bersifat sebagai antibakteri, menunjukkan bahwa ekstrak kasar rumput laut ini berpotensi sebagai antibakteri. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona hambat terhadap bakteri *Salmonella sp.* pada

ekstrak rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh. Hal ini berimplikasi bahwa ekstrak kasar rumput laut *S. duplicatum* J. Agardh memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai alternatif pengawet alami pada telur asin.

## **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk pengaplikasian ekstrak *S. duplicatum* J. Agardh tersebut terhadap telur asin, sehingga diketahui dengan pasti seberapa besar pengaruh penambahan ekstrak rumput laut tersebut terhadap daya simpan telur asin.
2. Perlu dilakukannya berbagai variasi baik dari jenis pelarut maupun jumlah ekstrak yang digunakan untuk mendapatkan hasil penelitian yang lebih maksimal.
3. Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut terhadap ekstrak kasar, sehingga diperoleh senyawa murni yang dapat menghasilkan uji secara maksimal.

## DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Afifah, Nurul, *Uji Salmonella-Shigella pada Telur Ayam yang Disimpan pada Suhu dan Waktu yang Berbeda, Jurnal*, Riau: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pasir Pengaraian, 2013.
- Apriandi, Azwin, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Keong Ipong-Ipong (Fasciolaria salmo), Skripsi*, (Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2011).
- Arikunto, Suharsimi, *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*, Jakarta: PT Asdi Mahasatya, 2006.
- Aslan, L. M., *Budidaya Rumput Laut*, Yogyakarta: Kanisius, 1991.
- Atmadja, W. S. dkk., *Pengenalan Jenis-jenis Rumput Laut Indonesia*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi LIPI, 1996.
- Choudhury, dkk., *In Vitro Antibacterial Activity of Extracts of selected Marine Algae and mangroves Against Fish Pathogens, Journal Asian Fisheries Science* 18, 2005.
- Fitri, Ana, *Pengaruh Penambahan Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Terhadap Kualitas Mikrobiologis, Kualitas Organoleptis Dan Daya Simpan Telur Asin Pada Suhu Kamar, Skripsi*, Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2007.
- Fuad Masduqi, Ahmad, dkk., *Efek Metode Pengeringan Terhadap Kandungan Bahan Kimia Dalam Rumput Laut Sargassumpolycystum, Jurnal*, Semarang: Program Studi Magister Biologi Fakultas Sains dan Matematika Undip, 2013.

- Ika Putranti, Ristyana, *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata dari Jepara, Tesis*, Semarang: Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Semarang 2013.
- Kuda, T ., dkk, *Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan, Journal of Food Composition and Analysis* 18 (2005).
- Kusumaningati, RW., *Analisis kandungan fenol total jahe (Zingiber officinale Roscoe) secara in vitro, skripsi*, Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, 2009.
- Meskin, MS. dkk., *Phytochemical in nutrition health*, London: CRC, 2002.
- Molyneux, P., *The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Journal of Science Technology*, Volume 26, No. 2, 2004.
- Mulya Anggraini, Sofi, *Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Kuningtelur yang Ditambah Madu dengan Jenis dan Umur Telur yang Berbeda, Skripsi*, Bogor: Departemen ilmu produksi dan teknologi peternakan Fakultas peternakan Institut Pertanian Bogor, 2011.
- Murni, Dewi, *Isolasi Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Menggunakan Artemia salina Leach dari Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Asa Tunga (Lithocarpus Celebicus (Miq) Rehder), Skripsi*, Jakarta: Universitas Indonesia, 2012.
- Pambayun, Rindit, dkk., *Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir, (Uncaria gambir Roxb), Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 2007.

- Permatasari, Elis, *Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada selada air (Nasturtium officinale L. R. Br)*, Skripsi, Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2011.
- Puspita Sari, Fahriya dan Shofi Muktiana Sari, *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (Jatropha multifida Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami*, Jurnal, Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, 2012.
- Renhoran, Mawaddah, *Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Sargassum Polycystum*, Skripsi, Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2012.
- Ridwina, Gerlinda, *Perbandingan Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Lempuyang Gajah*, Skripsi, Bogor : Institut Pertanian Bogor, 2008.
- Rosalina, Resy, *Efek rumput laut Euchema sp. terhadap kadar glukosa darah dan jumlah monosit pada tikus wistar yang diinduksi aloksan*, Karya Ilmiah, Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, 2009.
- Rosyidah, K., *Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi Mangifera casturi*, Jurnal Alchemy, Vol. 1, No. 2, 2010.
- Sabir, Ardo, *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp terhadap Bakteri Streptococcus mutans (in vitro)*, Majalah Kedokteran Gigi (Dent J), Vol. 38, No. 3, 2005.
- Sirait, Midian, *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, Bandung: ITB, 2007.
- Sudirman, Sabri, *Aktivitas Antioksidan dan Komponen bioaktif kangkung air (ipomoea aquatica forsk.)*, Jurnal, Bogor:

Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2011.

Sugiarto, dkk., *Teknik Sampling*, Jakarta: Gramedia Pustaka Utama, 2003.

Swantara, IMD. dkk, *Identifikasi senyawa antiradikal bebas pada rumput laut Sargassum ringgoldianum*, *Jurnal Kimia*, Volume 6, No. 1, 2009.

Tamat, SR. dkk., *Aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa bioaktif dari ekstrak rumput laut hijau Ulva reticulate Forskal.* *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol. 5, No. 1, 2007.

Tri Septiana, Aisyah dan Ari Asnani, *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum*, *Jurnal Teknologi Pertanian*, Vol. 14 No. 2 , Agustus/2013.

Tri Setiana, Aisyah dan Ari Asnani, *Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat Sargassum duplicatum Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi*, *Jurnal*, Purwokerto: Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman, 2012.

Wewengkang, D.S., dkk, *Karakterisasi dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons Haliclona sp. dari Teluk Manado*, *Jurnal Lppm Bidang Sains dan Teknologi*, Vol. 1 No. 1, 2014.

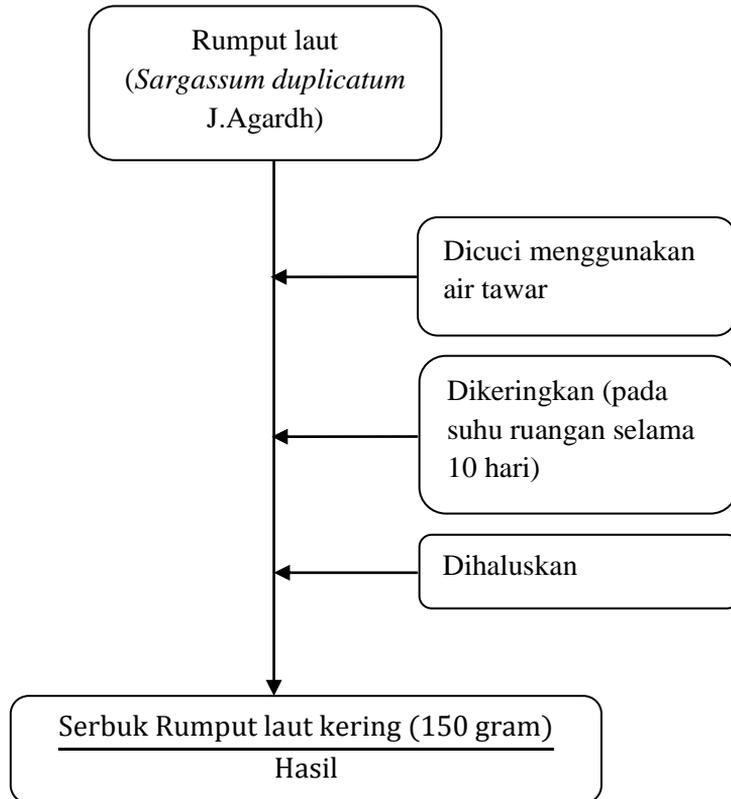
Yuliyanto, Tri, *Pengaruh Penambahan Ekstrak Teh Hijau, Ekstrak Daun Jambu Biji, dan Ekstrak Daun Salam Pada Pembuatan Telur Asin Rebus Terhadap Total Bakteri Selama Penyimpanan*, *Skripsi*, Surakarta: Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, 2011.

<http://id.wikipedia.org/wiki/Metanol>,

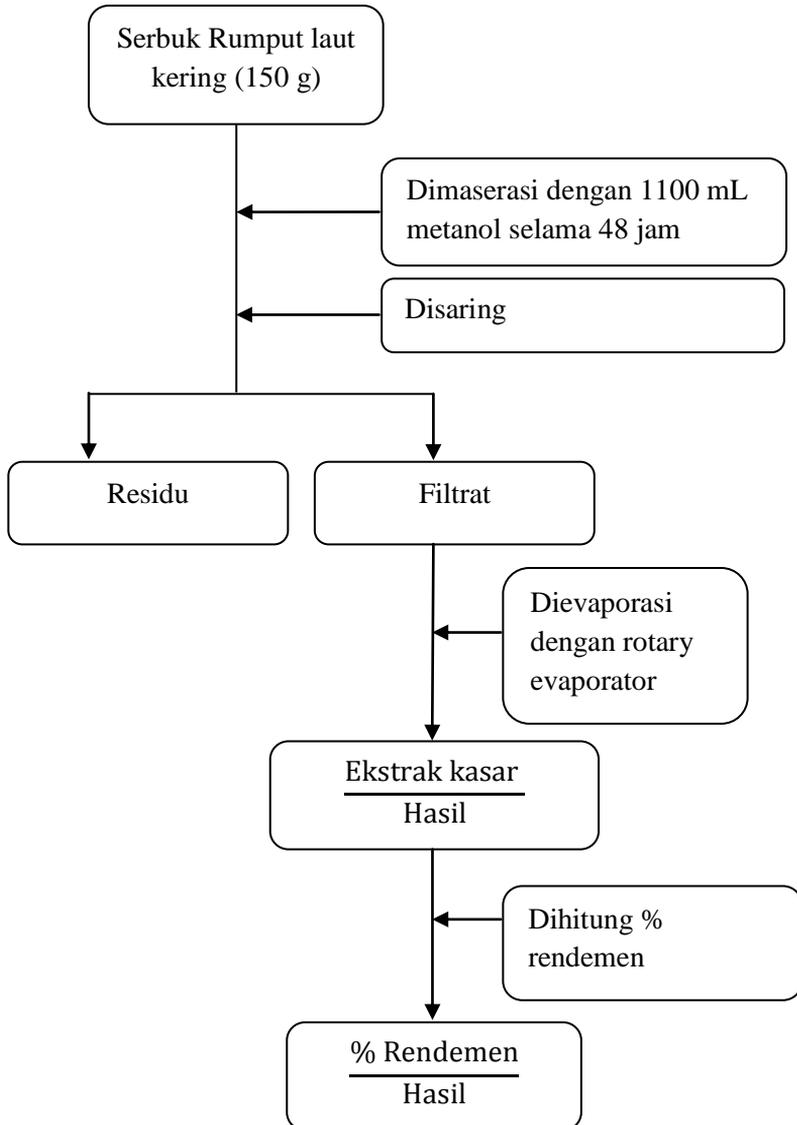
## Lampiran 1

### Metode Penelitian

#### A. Preparasi Sampel

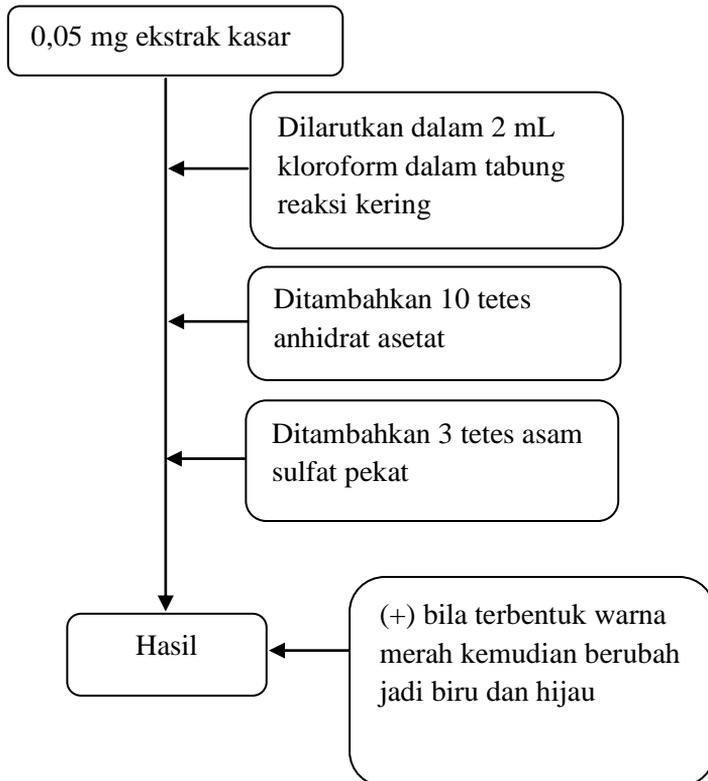


## B. Ekstraksi Sampel

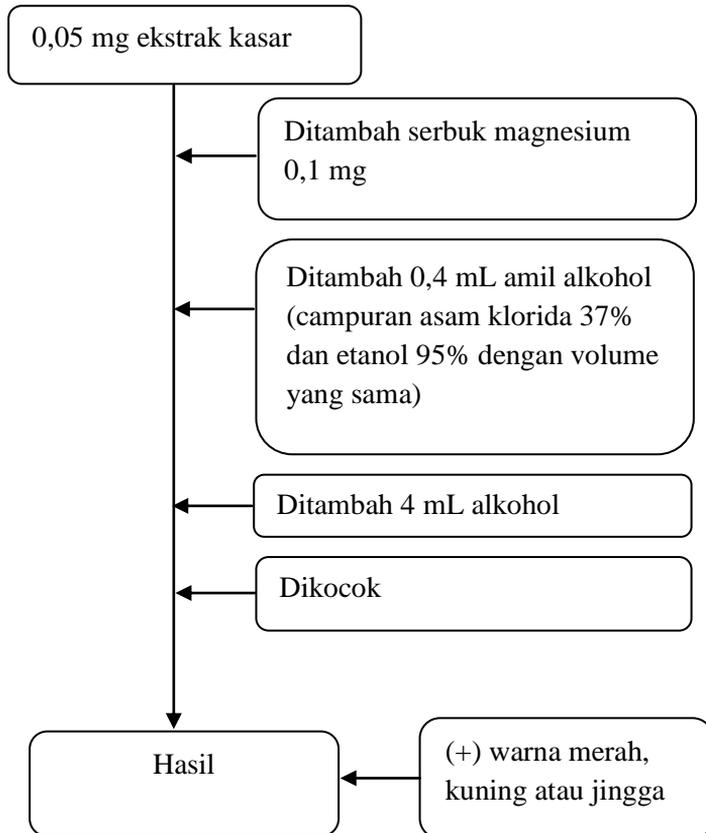


## C. Uji Fitokimia

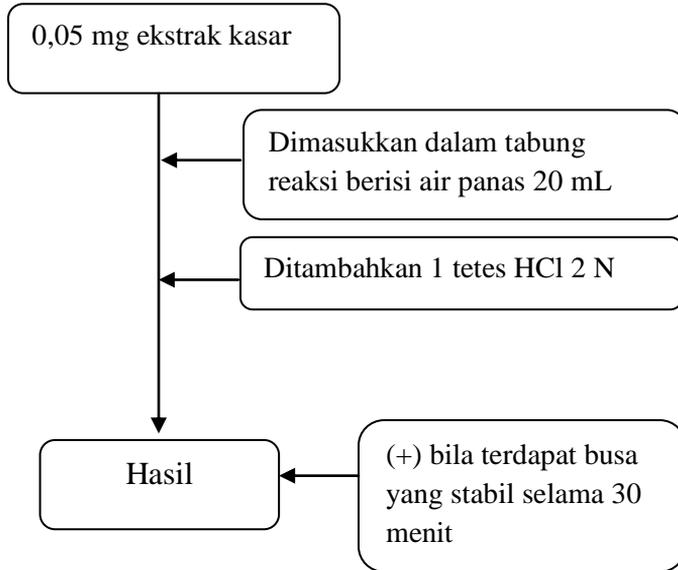
### 1. Steroid/triterpenoid



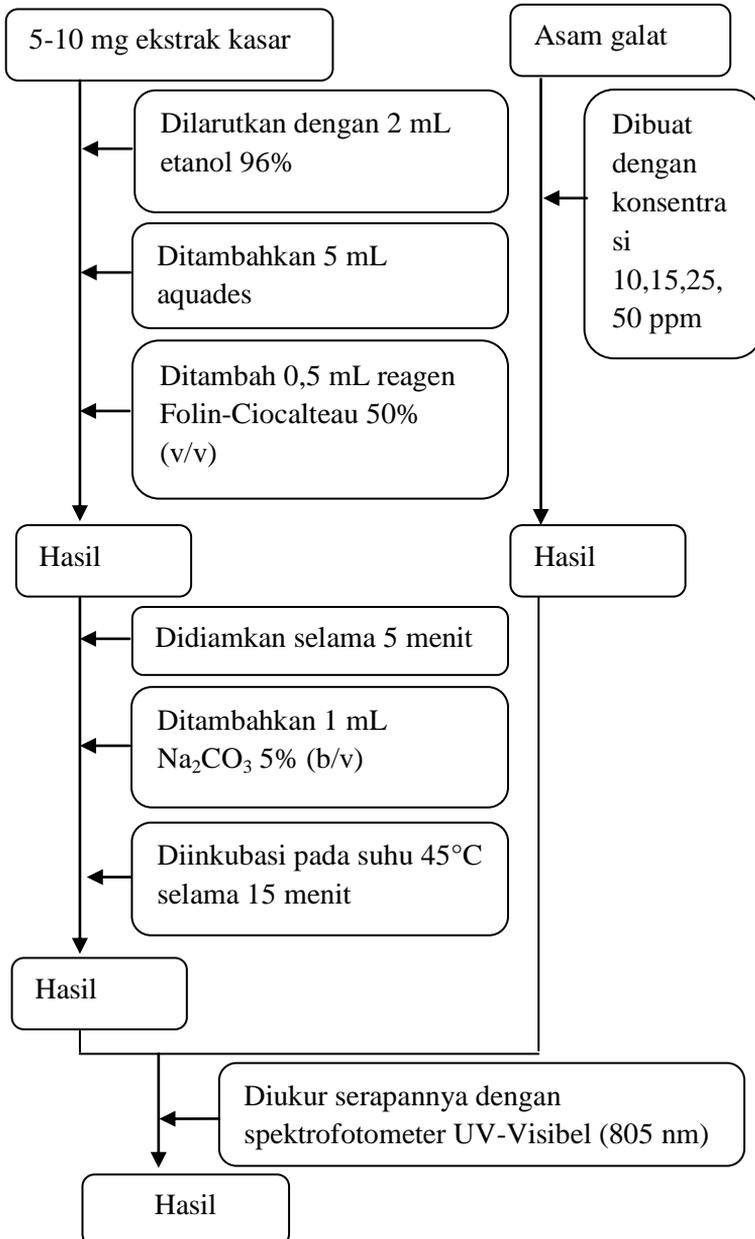
## 2. Flavonoid



### 3. Saponin

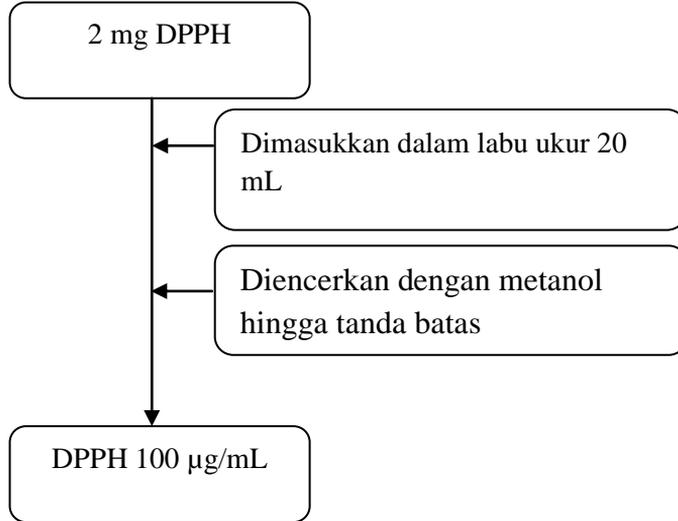


#### D. Uji Total Fenolat

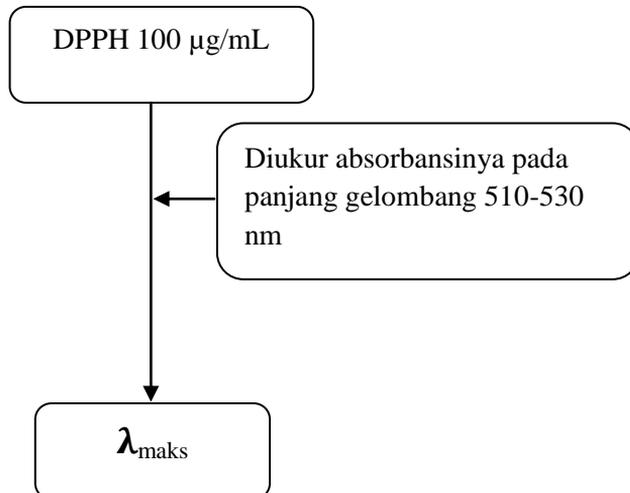


## E. Uji Antioksidan

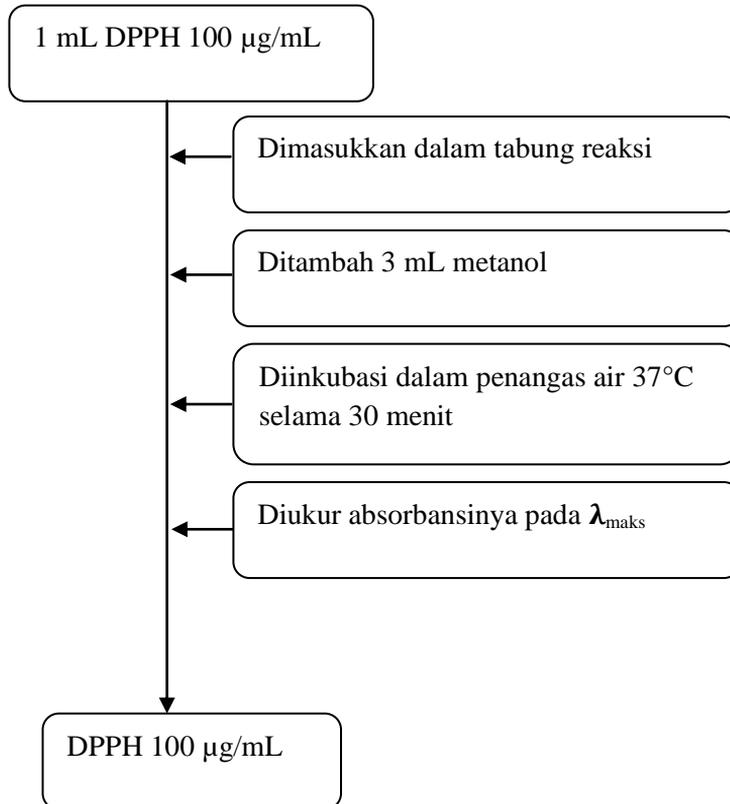
### 1. Pembuatan larutan DPPH



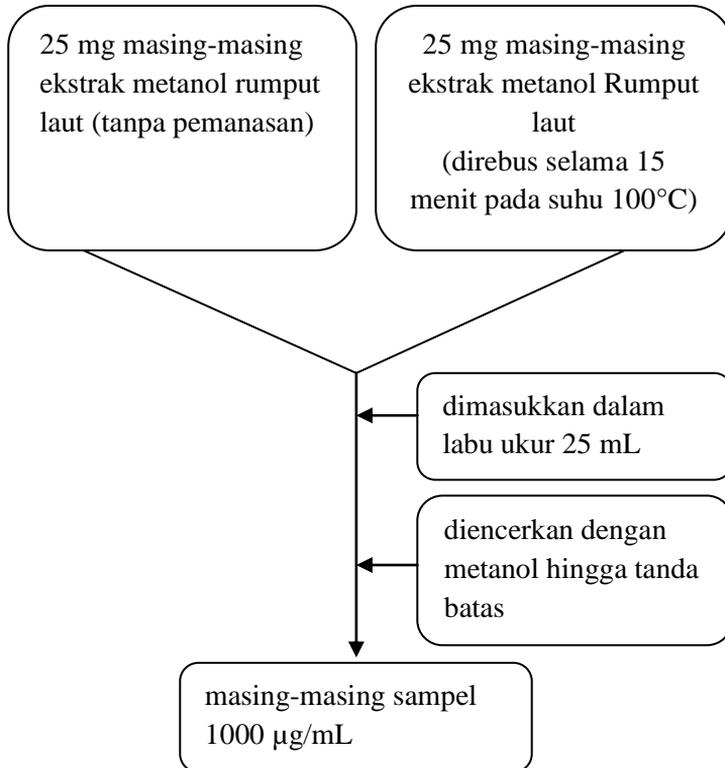
### 2. Optimasi panjang gelombang DPPH

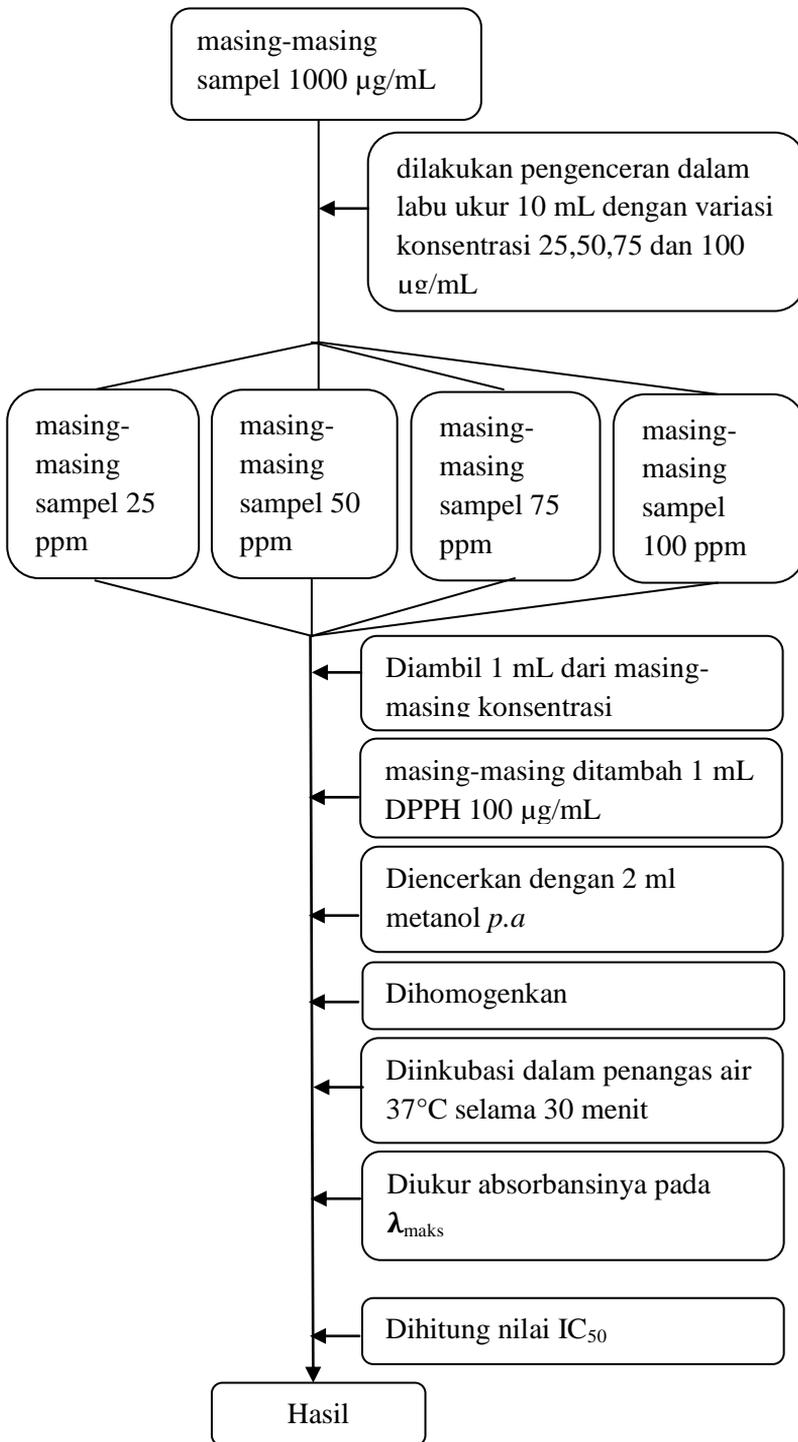


### 3. Pengukuran absorbansi larutan blanko



#### 4. Pengujian masing-masing ekstrak rumput laut





## F. Uji Antibakteri

### 1. Persiapan Penelitian

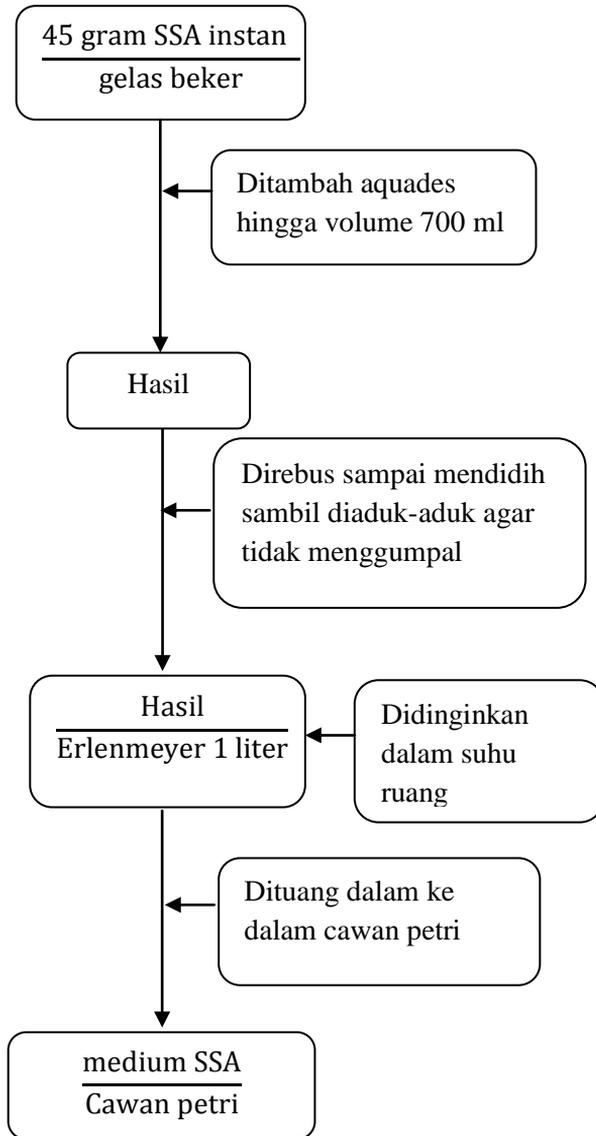
#### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Cawan Petri, Pipet Ukur, Tabung Reaksi,  
Fisologis (pengencer), medium SSA

Disterilisasi dengan  
autoklav pada suhu  
121°C dan tekanan 15  
Psi selama 15 menit

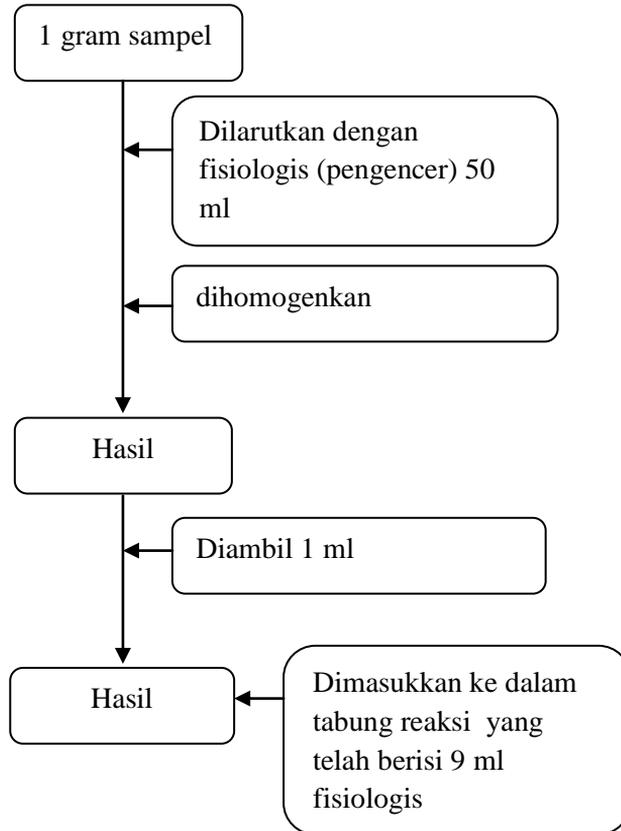
Hasil

**b. Penyediaan medium SSA (Salmonella-Shigella Agar)**

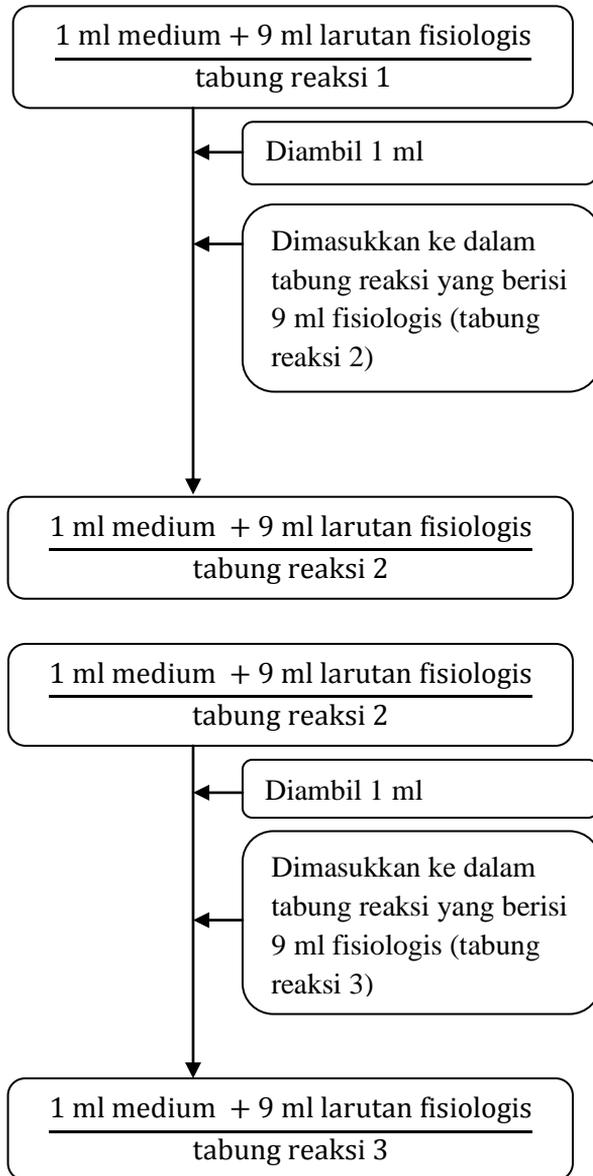


## 2. Pelaksanaan Pengujian

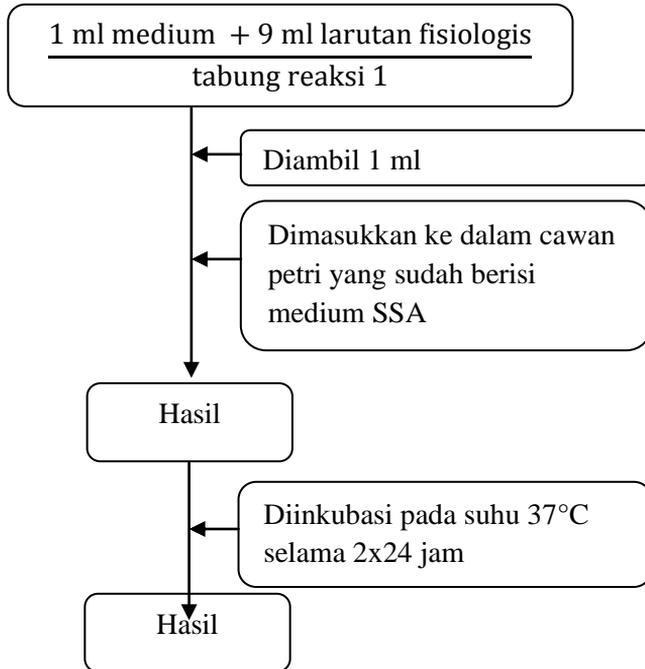
### a. Inokulasi Salmonella-Shigella



**Persiapan 3 tabung reaksi berisi masing-masing 9 ml larutan fisiologis**



## Pencampuran medium SSA dengan sampel



1 ml medium + 9 ml larutan fisiologis  
tabung reaksi 2



Diambil 1 ml

Dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi medium SSA

Hasil

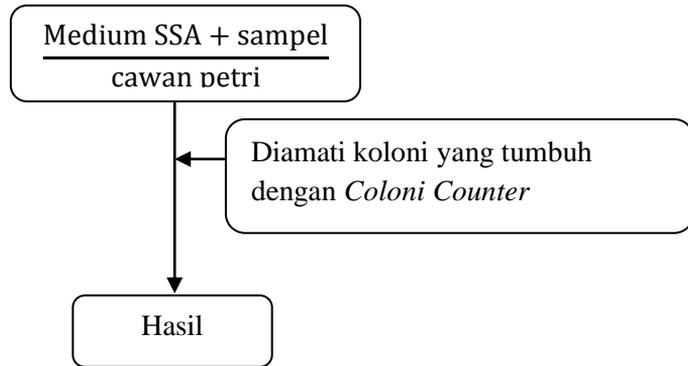


Diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam

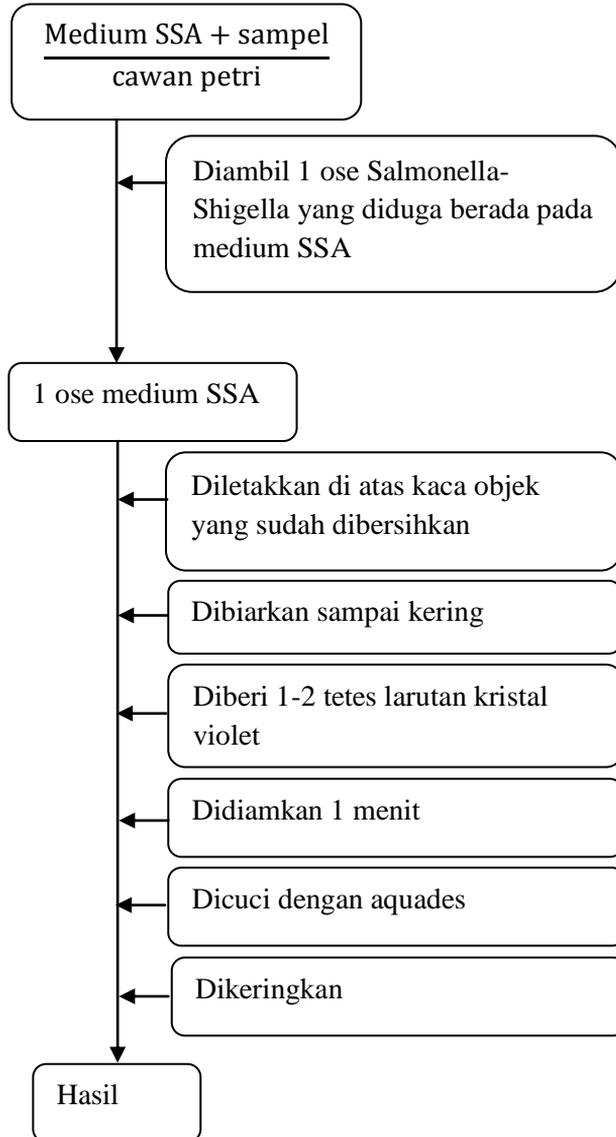
Hasil

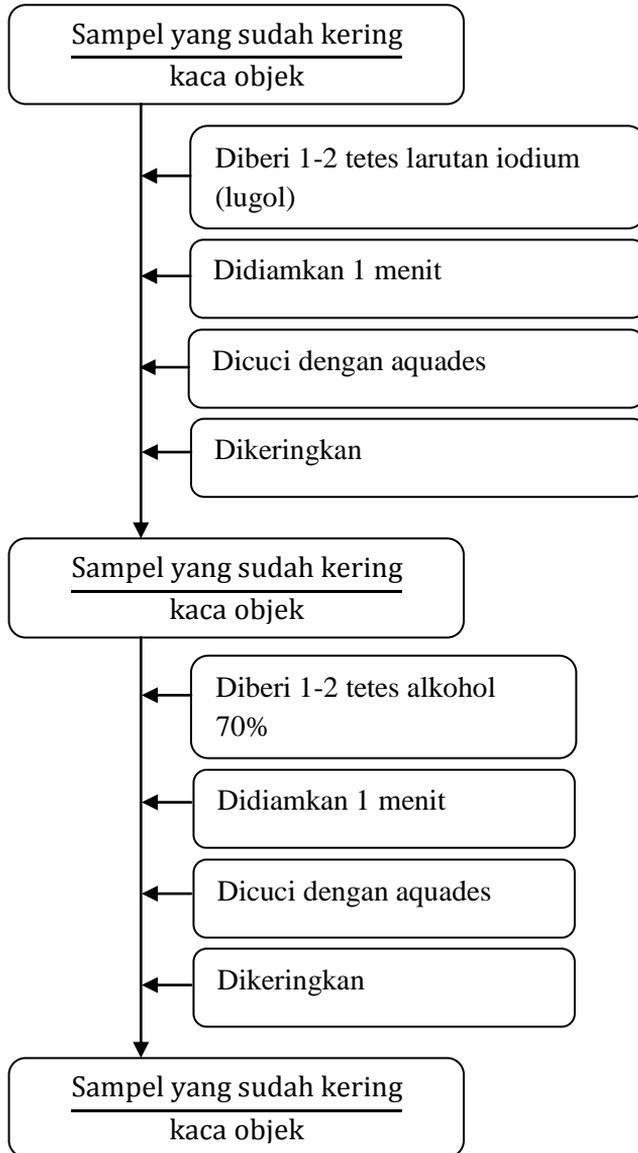
### 3. Pengamatan Bakteri

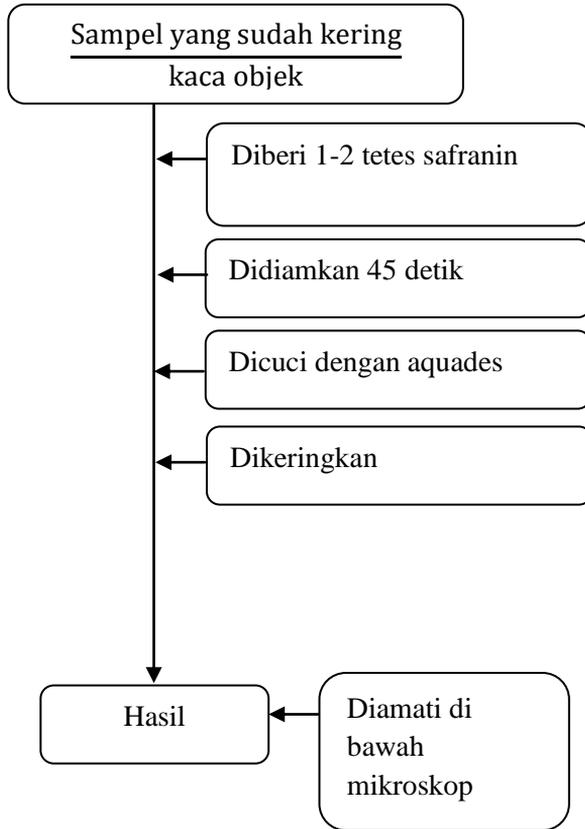
#### a. Menggunakan Metode Cawan Petri



**b. Menggunakan Metode Mikroskop**







## Lampiran 2

### Perhitungan Kimia

#### A. Perhitungan % rendemen ekstrak

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Jumlah berat ekstrak berupa pasta (g)}}{\text{Jumlah berat kering (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{9,46 \text{ gram}}{150 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 6,3\%\end{aligned}$$

#### B. Perhitungan pembuatan asam galat pada konsentrasi 10, 15, 25, dan 50 ppm

1. Massa Asam Galat yang diperlukan untuk membuat larutan induk 100 ppm sebanyak 0,05 L adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Massa (mg)} &= \text{Konsentrasi (ppm)} \times \text{Volume (liter)} \\ &= 100 \text{ ppm} \times 0.05 \text{ L} \\ &= 5 \text{ mg}\end{aligned}$$

2. Membuat larutan dengan konsentrasi 10 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 1 \text{ mL}\end{aligned}$$

3. Membuat larutan dengan konsentrasi 15 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 100 \times V_1 &= 15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 1,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

4. Membuat larutan dengan konsentrasi 25 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\100 \times V_1 &= 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= \frac{25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \\&= 2,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

5. Membuat larutan dengan konsentrasi 50 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\100 \times V_1 &= 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \\&= 5 \text{ mL}\end{aligned}$$

### C. Perhitungan Kadar Fenolat Total pada Sampel R.1

1. Kadar ekuivalen asam galat

$$\begin{aligned}y &= 0,0078x + 0,0372 \\0,216 &= 0,0078x + 0,0372 \\0,0078x &= 0,216 - 0,0372 \\x &= \frac{0,1788}{0,0078} \\&= 22,92 \text{ } \mu\text{gGAE/mL}\end{aligned}$$

2. Kadar ekuivalen asam galat untuk volume 10 mL

$$\begin{aligned}&= 22,92 \times 10 \\&= 229,2 \text{ } \mu\text{gGAE}\end{aligned}$$

3. Kandungan Fenol Total (p):

$$229,2 \mu\text{gGAE} / 0,005 \text{ g} = p \text{ mgGAE} / 100 \text{ g}$$

$$229,2 \times 10^{-3} \text{ mgGAE} / 0,005 \text{ g} = p \text{ mgGAE} / 100 \text{ g}$$

$$229,2 \times 10^{-3} \times 100 = 0,005p$$

$$22,92 = 0,005p$$

$$p = 22,92 / 0,005$$

$$p = 4584$$

Faktor pengenceran = 2

Kandungan fenol total setelah dikali faktor pengenceran

$$= 4584 \times 2$$

$$= 9168$$

Jadi, kandungan fenol total pada sampel R.1 dalam penelitian ini adalah 9168 mgGAE/100 g sampel.

**D. Perhitungan Kadar Fenolat Total pada Sampel R.2**

1. Kadar ekuivalen asam galat

$$y = 0,0078x + 0,0372$$

$$0,174 = 0,0078x + 0,0372$$

$$0,0078x = 0,174 - 0,0372$$

$$x = \frac{0,1368}{0,0078}$$

$$= 17,54 \mu\text{gGAE/mL}$$

2. Kadar ekuivalen asam galat untuk volume 10 mL  
 $= 17,54 \times 10$   
 $= 175,4 \mu\text{gGAE}$
3. Kandungan Fenol Total (p):
- $$175,4 \mu\text{gGAE} / 0,005 \text{ g} = p \text{ mgGAE} / 100 \text{ g}$$
- $$175,4 \times 10^{-3} \text{ mgGAE} / 0,005 \text{ g} = p \text{ mgGAE} / 100 \text{ g}$$
- $$175,4 \times 10^{-3} \times 100 = 0,005p$$
- $$17,54 = 0,005p$$
- $$p = 17,54 / 0,005$$
- $$p = 3508$$

Faktor pengenceran = 2

Kandungan fenol total setelah dikali faktor pengenceran

$= 3508 \times 2$

$= 7016$

Jadi, kandungan fenol total pada sampel R.2 dalam penelitian ini adalah 7016 mgGAE/100 g sampel.

## **E. Perhitungan Uji Antioksidan**

### **1. Perhitungan pembuatan larutan standar DPPH**

Massa DPPH yang diperlukan untuk membuat larutan standar

100 ppm sebanyak 20 mL adalah sebagai berikut:

Massa (mg) = Konsentrasi (ppm) X Volume (liter)

$= 100 \text{ ppm} \times 0,02 \text{ L}$

$= 2 \text{ mg}$

## 2. Perhitungan pengenceran ekstrak sampel

- a. Membuat larutan dengan konsentrasi 25 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= \frac{25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} \\&= 0.25 \text{ mL}\end{aligned}$$

- b. Membuat larutan dengan konsentrasi 50 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} \\&= 0.5 \text{ mL}\end{aligned}$$

- c. Membuat larutan dengan konsentrasi 75 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 75 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= \frac{75 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} \\&= 0.75 \text{ mL}\end{aligned}$$

- d. Membuat larutan dengan konsentrasi 100 ppm:

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\1000 \text{ ppm} \times V_1 &= 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} \\&= 1 \text{ mL}\end{aligned}$$

### Lampiran 3

#### Data hasil pengukuran nilai absorbansi, % inhibisi dan IC<sub>50</sub>

#### Absorbansi dan persen (%) Inhibisi pada sampel R.1

No	Konsentrasi (ppm)	R.1 Ulangan 1			R.1 Ulangan 2			Rata-rata % Inhibisi
		A DPPH	A Sampel	% Inhibisi	A DPPH	A Sampel	% Inhibisi	
1.	25	0,675	0,471	30,22	0,676	0,473	30,03	30,12
2.	50	0,688	0,459	33,28	0,688	0,458	33,43	33,36
3.	75	0,647	0,410	36,63	0,649	0,411	36,67	36,65
4.	100	0,664	0,375	43,52	0,667	0,375	43,79	43,65

Perhitungan persen (%) inhibisi R.1 ulangan 1

1. Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,675 - 0,471}{0,675} = 30,22$$

2. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,688 - 0,459}{0,688} = 33,28$$

3. Konsentrasi 75 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,647 - 0,410}{0,647} = 36,63$$

4. Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,644 - 0,375}{0,644} = 43,52$$

Perhitungan persen (%) inhibisi R.1 ulangan 2

1. Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,676 - 0,473}{0,676} = 30,03$$

2. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,688-0,458}{0,688} = 33,43$$

3. Konsentrasi 75 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,649-0,411}{0,649} = 36,67$$

4. Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,667-0,375}{0,667} = 43,79$$

Rata-rata persen (%) inhibisi R.1

1. Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{30,22 + 30,03}{2} = 30,12$$

2. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{33,28 + 33,43}{2} = 33,36$$

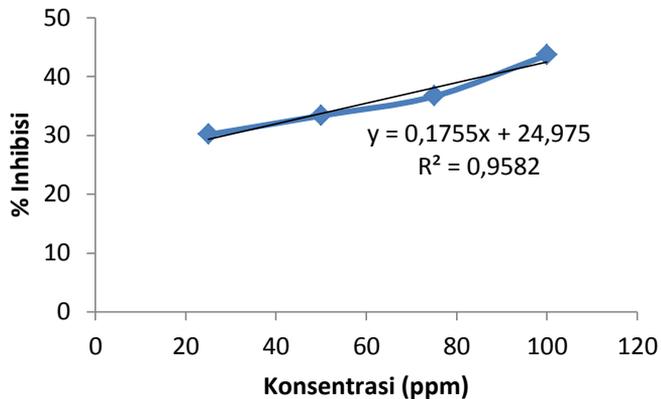
3. Konsentrasi 75 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{36,63+36,67}{2} = 36,65$$

4. Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{43,52+43,79}{2} = 43,65$$

Dari data tabel dapat disubstitusikan ke dalam persamaan linear  $Y= aX+b$ . Persamaan linear dapat di lihat pada gambar di bawah ini.



Persamaan linearnya adalah,  $y = 0,175x + 24,97$

$$IC_{50} = \frac{50 - 24,97}{0,175} = 143,03 \mu\text{g/mL}$$

### Absorbansi dan persen (%) Inhibisi pada sampel R.2

No	Konsentrasi (ppm)	R.2 Ulangan 1			R.2 Ulangan 2			Rata-rata % Inhibisi
		A DPPH	A Sampel	% Inhibisi	A DPPH	A Sampel	% Inhibisi	
1.	25	0,681	0,440	35,39	0,685	0,440	35,77	35,58
2.	50	0,691	0,439	36,47	0,692	0,439	36,56	36,51
3.	75	0,650	0,410	36,92	0,653	0,412	36,91	36,91
4.	100	0,656	0,400	39,02	0,659	0,400	39,30	39,16

Perhitungan persen (%) inhibisi R.2 ulangan 1

1. Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,681 - 0,440}{0,681} = 35,39$$

2. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,691-0,439}{0,691} = 36,47$$

3. Konsentrasi 75 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,650-0,410}{0,650} = 36,92$$

4. Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,656-0,400}{0,656} = 39,02$$

Perhitungan persen (%) inhibisi R.2 ulangan 2

1. Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,685-0,440}{0,685} = 35,58$$

2. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,692-0,439}{0,692} = 36,51$$

3. Konsentrasi 75 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,653-0,412}{0,653} = 36,91$$

4. Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,659-0,400}{0,659} = 39,16$$

Rata-rata persen (%) inhibisi R.2

a. Konsentrasi 25 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{35,39+35,77}{2} = 35,58$$

b. Konsentrasi 50 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{36,47 + 36,56}{2} = 36,51$$

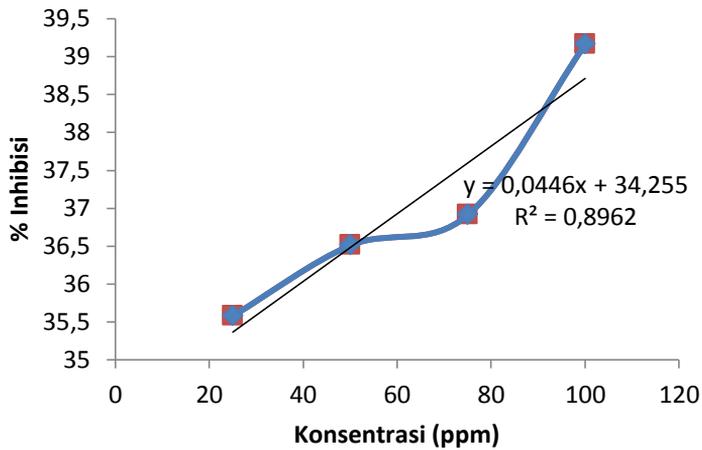
c. Konsentrasi 75 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{36,92+36,91}{2} = 36,91$$

d. Konsentrasi 100 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{39,02+39,40}{2} = 39,16$$

Dari data tabel dapat disubstitusikan ke dalam persamaan linear  $Y = aX + b$ . Persamaan linear dapat di lihat pada gambar di bawah ini.



Persamaan linearnya adalah,  $y = 0,044x + 34,25$

$$IC_{50} = \frac{50-34,25}{0,044} = 357,95 \mu\text{g/mL}$$

**Lampiran 4**  
**Gambar Penelitian**



Pencucian Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh



Pengeringan Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh



Penghalusan Rumput Laut *Sargassum duplicatum* J. Agardh



Proses maserasi dengan pelarut metanol



Proses evaporasi dengan *rotari vaccum evaporator*



Proses Uji Fitokimia



Proses pembuatan asam galat



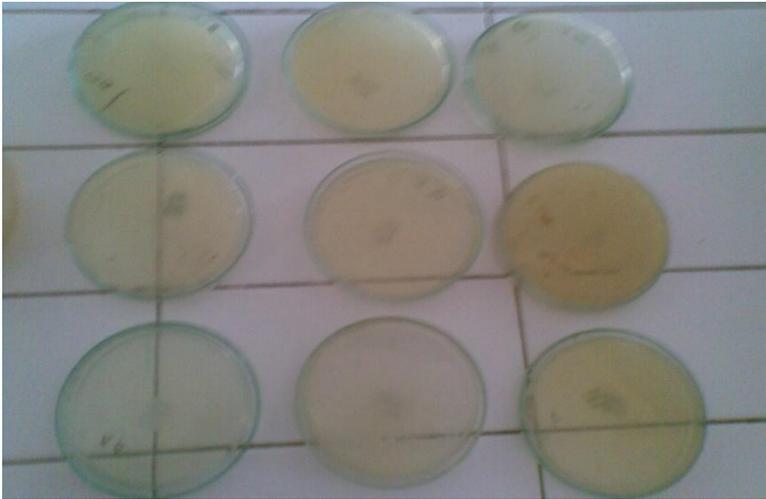
Proses pembuatan larutan DPPH



Perhitungan Absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-  
Vis



Sterilisasi alat dan bahan uji antibakteri



Pembuatan medium SSA



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG  
FAKULTAS ILMU TARBIYAH DAN KEGURUAN  
Jl. Prof. Dr. Hamka Kampus II Ngaliyan Semarang  
Telp. 024-7601295 Fax. 7615387 Semarang 50185

Nomor: In.06.03/D.1/TL.00./1448/2015

Semarang, 13 Maret 2015

Lamp. : 2 Lembar

Hal : **Mohon Izin Riset**

A.n. : Satria Bagus Firmansyah

NIM : 113711015

Yth.

Kepala Laboratorium Kimia FITK UIN Walisongo  
di Semarang

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Diberitahukan dengan hormat dalam rangka penulisan skripsi, bersama ini kami hadapkan mahasiswa:

Nama : Satria Bagus Firmansyah

NIM : 113711015

Alamat : Desa Dukuhtengah RT.07/RW 04, Kec. Ketanggungan,  
Kab. Brebes

Judul Skripsi : **Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Sargassum Duplicatum* J.Agardh) serta Potensinya sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Pembuatan Telur Asin**

Pembimbing : 1. Arizal Firmansyah, M.Si, Sebagai pembimbing I  
2. Nur Hayati, S.Pd., M.Si, Sebagai pembimbing II

Mahasiswa tersebut membutuhkan data-data dengan tema/judul skripsi yang sedang disusun, oleh karena itu kami mohon Mahasiswa tersebut di ijinakan melaksanakan riset selama dua bulan, pada tanggal 16 Maret 2015 sampai dengan tanggal 30 April 2015.

Demikian atas perhatian dan kerjasama Bapak/Ibu/Sdr. disampaikan terima kasih.  
*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

A.n. Dekan,

Wakil Dekan Bidang Akademik



Drs. H. Wahyudi, M.Pd.

NIP. 19680314 199503 1 001

**Tembusan:**

**Dekan Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Walisongo Semarang**



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG**  
**FAKULTAS ILMU TARBIYAH DAN KEGURUAN**  
Jl. Prof. Dr. Hamka Kampus II Ngaliyan Semarang  
Telp. 024-7601295 Fax. 7615387 Semarang 50185

Nomor : In.06.03/D.1/TL.00./1445/2015

Semarang, 13 Maret 2015

Lamp. : 2 Lembar

Hal : **Permohonan Bahan Penelitian**

A.n. : Satria Bagus Firmansyah

NIM : 113711015

Yth.

Kepala Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Matematika UNDIP  
di Semarang

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Diberitahukan dengan hormat dalam rangka penulisan skripsi, bersama ini kami hadapkan mahasiswa:

Nama : Satria Bagus Firmansyah

NIM : 113711015

Alamat : Desa Dukuhtengah RT.07/RW 04, Kec. Ketanggungan,  
Kab. Brebes

Judul Skripsi : **Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut (*Sargassum Duplicatum* J.Agardh) serta Potensinya sebagai Alternatif Pengawet Alami pada Pembuatan Telur Asin**

Pembimbing : 1. Arizal Firmansyah, M.Si, Sebagai pembimbing I

2. Nur Hayati, S.Pd., M.Si, Sebagai pembimbing II

Mahasiswa tersebut membutuhkan bahan-bahan terkait dengan tema/judul skripsi yang sedang disusun, oleh karena itu kami mohon Mahasiswa tersebut di ijinakan untuk melengkapi seluruh kebutuhan bahan yang diperlukan.

Demikian atas perhatian dan kerjasama Bapak/Ibu/Sdr. disampaikan terima kasih.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

A.n. Dekan,  
Wakil Dekan Bidang Akademik



Dr. H. Wahyudi, M.Pd.

NIP. 19680314 199503 1 001

**Tembusan:**

**Dekan Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan UIN Walisongo Semarang**



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG  
UNIT PELAKSANA TEKNIS (UPT) LABORATORIUM  
ILMU GIZI & TEKNOLOGI PANGAN

Jl. Kedungmundu Raya No. 22 Semarang, Telp. (024) 76740231  
e-mail : [uptlabgizitp@yahoo.co.id](mailto:uptlabgizitp@yahoo.co.id) web : [labfikkes.uinmu.ac.id](http://labfikkes.uinmu.ac.id)

**SURAT KETERANGAN**

No. 039 / UNIMUS.LKG / IV / 2015

Tentang

**PENELITIAN SKRIPSI :  
UJI KADAR ANTIBAKTERI SALMONELLA  
PADA PARAMETER EKSTRAK RUMPUT LAUT**

Yang bertanda tangan dibawah ini Unit Pelaksana Teknis (UPT) Laboratorium Ilmu Gizi dan Teknologi Pangan Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, menerangkan :

Nama : Satria Bagus Firmansyah  
NIM : 113711015  
Tingkat/Semester : 4 / VIII  
Program Studi : S 1 Tadris Kimia  
Fakultas : FITK  
Universitas : UIN Walisonga Semarang  
Alamat : Wahyu Asri Selatan II Blok D.12 Ngaliyan Semarang

Telah nyata melaksanakan Penelitian : Uji Kadar Antibakteri Salmonella pada parameter *Ekstrak Rumput Laut*, di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Laboratorium Ilmu Gizi dan Teknologi Pangan Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang sampai dengan 6 April s.d 13 April 2015.

Surat Keterangan ini diterbitkan atas permintaan yang bersangkutan guna penyelesaian Penelitian syarat Skripsi yang telah dilakukan penelitian dengan sebenar-benarnya sesuai dengan parameter yang diterima.

Demikian, surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Semarang, 13 April 2015  
Kepala UPT Laboratorium Ilmu Gizi dan Teknologi Pangan  
  
Idris Susanto, S. Kp, M. Kes  
08.5.1026.054





**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**  
**UNIT PELAKSANA TEKNIS (UPT) LABORATORIUM**  
**PROGRAM STUDI ILMU GIZI & TEKNOLOGI PANGAN**

Jl. Kedungmundu Raya No. 22 Semarang, Telp. (024) 76740231

e-mail : uptlabgizi@yahoo.co.id web : labfikkes.unimus.ac.id

**HASIL UJI ANTIBAKTERI SALMONELLA**  
**PADA PARAMETER EKSTRAK RUMPUT LAUT**

PARAMETER	HASIL SALMONELLA	
	1	2
Sampel A	41,20 mm	11,51 mm
Sampel B	2,10 mm	1,91 mm

Universitas Muhammadiyah Semarang, April 2015  
Edy Susanto, S.Kp, M. Kes  
NIP. 26.6.1026.054

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas Diri

1. Nama lengkap : Satria Bagus Firmansyah
2. Tempat dan Tgl lahir : Brebes, 29 Desember 1993
3. Alamat rumah : Ds. Dukuhtengah RT 07 RW 04,  
Kec. Ketanggungan, Kab. Brebes
- HP : 089629338663 / 085742304960
- Email : [satriabagusfirmansyah@gmail.com](mailto:satriabagusfirmansyah@gmail.com)  
[Satria\\_bagus61@yahoo.com](mailto:Satria_bagus61@yahoo.com)

### B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
  - a. SDN Dukuhtengah, lulus pada tahun 2005
  - b. MTs N Ketanggungan, lulus pada tahun 2008
  - c. SMAN 2 Brebes, lulus pada tahun 2011
  - d. UIN Walisongo Semarang, lulus tahun 2015
2. Pendidikan non-Formal
  - a. Madrasah Diniyah Matlabul Ulum

Semarang, 27 Juni 2015

**Satria Bagus Firmansyah**  
113711015