

Original Research

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI MAKROALGA *Eucheuma cottonii* TERDELIGNIFIKASI TERHADAP BAKTERI PENYEBAB JERAWAT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DELIGNIFIED *Eucheuma cottonii* MACROALGAE EXTRACT AND FRACTION AGAINST ACNE CAUSE BACTERIA

Dewi Kurnia^{1*}, Hafidan Asykar Akbar², Aris Suhardiman³

Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Indonesia, 40614

*E-mail: dewi.kurnia@bku.ac.id

Diterima: 17/10/22

Direvisi: 23/11/22

Disetujui: 16/12/22

Abstrak

Jerawat merupakan penyakit kulit yang diakibatkan oleh bakteri. *Eucheuma cottonii* merupakan jenis rumput laut merah yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii* yang telah didelignifikasi terhadap bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dan fraksinasi dengan metode ECC menggunakan n-heksana, etil asetat dan metanol-air. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode mikrodilusi dengan pembanding klindamisin. Nilai rata-rata rendemen ekstrak dan fraksi diperoleh sebesar 27,96; 1,15; 2,03 dan 91,66%. Pada pemantauan KLT baik ekstrak dan fraksi menunjukkan adanya senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, steroid dan terpenoid. Nilai KHM terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dari ekstrak dan fraksi metanol-air adalah 1250 ppm sedangkan fraksi n-heksana dan etil asetat sebesar 2.500 ppm dengan KHM pembanding klindamisin 625 ppm. Nilai KHM terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari ekstrak etanol sebesar 1250 ppm, fraksi metanol-air 5000 ppm sedangkan fraksi n-heksana dan etil asetat tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Nilai KBM ekstrak dan fraksi pada kedua bakteri uji dengan konsentrasi 10.000 ppm tidak dapat membunuh bakteri, sedangkan nilai KBM pembanding klindamisin 1250 ppm. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan ekstrak etanol dan fraksi metanol-air *Eucheuma cottonii* berpotensi sebagai antibakteri penyebab jerawat.

Kata Kunci: antibakteri; delignifikasi; *Eucheuma cottonii*; *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus epidermidis*

Abstract

Acne is a skin disease caused by bacteria. *Eucheuma cottonii* is a type of red seaweed which is known to have antibacterial activity. In this study, the antibacterial activity of extracts and fractions of the macroalgae *Eucheuma cottonii* which had been delignified was tested against the acne-causing bacteria *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. Extraction was carried out by maceration method using 70% ethanol and fractionation by ECC method using n-hexane, ethyl acetate and methanol-water. The antibacterial activity test was carried out

using the microdilution method with a comparison of clindamycin. The average value of extract and fraction yield was 27.96; 1.15; 2.03 and 91.66%. In TLC monitoring both extracts and fractions showed the presence of flavonoid compounds, alkaloids, phenolics, steroids and terpenoids. The MIC value for *Propionibacterium acnes* from the extract and the methanol-water fraction was 1250 ppm, while the n-hexane and ethyl acetate fractions were 2,500 ppm with the comparison MIC of clindamycin 625 ppm. The MIC value for *Staphylococcus epidermidis* from ethanol extract was 1250 ppm, the methanol-water fraction was 5000 ppm, while the n-hexane and ethyl acetate fractions did not show antibacterial activity. The MBC value of extracts and fractions in the two test bacteria with a concentration of 10,000 ppm could not kill bacteria, while the comparative MBC value of clindamycin was 1250 ppm. Based on these results, it can be concluded that the ethanol extract and the methanol-water fraction of *Eucheuma cottonii* have the potential as antibacterial agents that cause acne.

Keyword : Antibacterial; delignification; *Eucheuma cottonii*; *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus epidermidis*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan alam bahari yang melimpah sekaligus negara maritim dengan kondisi geografis yang memiliki luas wilayah $\pm 70\%$ bagian berupa lautan. Salah satu sumber daya alam bahari yang mempunyai potensi adalah alga, sekaligus salah satu komoditas terbanyak hampir di seluruh penjuru perairan Indonesia [1]. Indonesia merupakan produsen rumput laut terbesar kedua setelah Tiongkok serta diketahui bahwa 60-70% pemenuhan kebutuhan rumput laut dunia berasal dari Indonesia [2]. Terdapat dua jenis alga, ada yang berukuran kecil atau mikroalga yang mempunyai struktur tubuh berukuran mikroskopis, lazim disebut sebagai fitoplankton dan termasuk organisme prokariotik dan memiliki struktur-struktur sel khusus, memiliki kloroplas, DNA-nya berada dalam sebuah nukleus, dan beberapa jenisnya memiliki flagella [3]. Jenis lainnya adalah makroalga yang merupakan alga berukuran besar dengan struktur tubuh berupa talus dan memiliki pigmen klorofil, karotenoid dan fikosianin. Senyawa bioaktif dari alga sudah diketahui dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, antijamur, antidiabetes dan antiinflamasi [4].

Alga dibagi dalam beberapa kelompok berdasarkan warna pigmen yang dihasilkan terdapat tiga macam yaitu; *Chlorophyceae* (alga hijau), *Phaeophyceae* (alga coklat), dan *Rhodophyceae* (alga merah). Rumput laut merah memiliki berbagai potensi yang dapat dimanfaatkan. Salah satu pemanfaatan yang dapat dilakukan dalam dunia farmasi digunakan untuk penanganan bakteri, yang kini sudah banyak memperlihatkan sifat resisten pada antibiotik [5]. Salah satu jenis dari alga merah adalah *Eucheuma cottonii*, senyawa bioaktif yang terkandung pada alga merah antara lain poliketida, peptida siklik, alkaloid, polisakarida, diterpenoid, sterol, phlorotanin, quinine, asetogenik, terpenoid, serta senyawa aromatik [6]. Aktivitas dari ekstrak alga merah *Eucheuma cottonii* sebagai antibakteri dengan spektrum luas karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif ataupun Gram positif. Dibuktikan pada beberapa penelitian menyatakan ekstrak *Eucheuma cottonii* mempunyai kemampuan hambat minimum antibakteri pada bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* [7].

Salah satu penyakit kulit yang diakibatkan oleh bakteri adalah jerawat (*Acne vulgaris*). Jerawat yaitu penyakit kulit yang muncul ketika memasuki usia remaja hingga dewasa, mulai dari adanya papul, pustul, komedo, nodus, ataupun kista di sekitar lengan atas, leher, dada,

wajah, atau punggung. Walaupun tidak membahayakan jiwa, jerawat bisa memberi pengaruh pada kualitas hidup manusia dengan memberi efek psikologis buruk berupa cara seseorang memandang, menilai, maupun memberi tanggapan pada situasi atau kondisi pribadi [8]. Dalam mengobati jerawat yang paling umum dilakukan yaitu dengan penggunaan antibiotik seperti eritromisin, doksisisiklin, tetrasiklin, dan klindamisin. Penggunaan antibiotik untuk mengobati jerawat dalam pemakaian lama selain obat menjadi resisten terhadap bakteri, organ terganggu dan imunohipersensitivitas [9].

Pada penelitian sebelumnya dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, namun hasil yang diperoleh masih kurang baik diduga disebabkan oleh proses ekstraksi yang belum optimum. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan optimasi proses ekstraksi dengan melakukan delignifikasi dan sonikasi pada tahapan preparasi sampel. Pada penelitian ini, selain untuk mengetahui tinggi rendahnya aktivitas antibakteri dari ekstrak *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*, juga untuk mengetahui pengaruh perlakuan preparasi dengan delignifikasi sebelum proses ekstraksi, agar senyawa aktif dapat berpenetrasi dengan baik oleh pelarut.

METODE

Sampel (Bahan) Penelitian

Makroalga *Eucheuma cottonii* yang digunakan berasal dari daerah Pantai Onaria, Desa Tri Dharmayoga Kec. Ketapang, Lampung-Selatan, Bandar Lampung, Indonesia. Bahan lain yang dipergunakan saat penelitian diantaranya aluminium foil, plastik wrap, ice gel, kertas saring, kasa steril, kapas lemak, CaCO_3 , NaOH, etanol p.a (Merck), kloroform p.a (Merck), n-heksana p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), AlCl_3 , FeCl_3 , Sitroborat, H_2SO_4 , amil alkohol, HCl, NaCl, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, pereaksi Steasny, natrium asetat, larutan besi klorida dan asam asetat glasial. Bakteri uji yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes* dan bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan hasil biakan murni yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi SITH ITB. Medium pertumbuhan bakteri yang digunakan Muller Hinton Broth (MHB) dan Muller Hinton Agar (MHA) (Merck).

Alat

Peralatan gelas yang digunakan berupa cawan petri, botol kaca berkapasitas, botol gelap, pipet tetes, batang pengaduk, tabung reaksi, corong pisah, corong gelas, gelas ukur, Erlenmeyer, dan gelas kimia. Peralatan non gelas berupa batang statip, bunsen, tip mikro, korek api. Peralatan lain yang digunakan yaitu pinset, grinder atau blender, Neraca Analitik Mettler Toledo, furnace, desikator, rotary evaporator, plat KLT F254, lampu UV λ 254 nm dan λ 366 nm, Autoklaf, microplate, mikroskop, timer, mikro pipet berukuran 5–50 μL juga 100–1000 μL , dan inkubator anaerob, kawat ose, aluminium foil, vortex dan, kertas saring.

Prosedur kerja

Proses Preparasi Sampel

Sebanyak 20 kg rumput laut *Eucheuma cottonii* dicuci dengan air mengalir untuk memisahkan pengotor juga pasir yang terbawa. Selanjutnya dilakukan perendaman CaCO_3 jenuh selama 24 jam lalu bilas dengan air bersih. Selanjutnya dilakukan perendaman dengan menggunakan larutan NaOH 0,1 N hingga seluruh permukaan terendam sempurna selama 24 jam, kemudian sampel dicuci menggunakan air panas untuk menetralkan NaOH. Sampel rumput laut dirajang lalu dikering-anginkan hingga benar-benar kering. Sampel kering dihaluskan menggunakan grinder hingga menjadi serbuk untuk selanjutnya dilakukan proses karakterisasi dan ekstraksi [10].

Karakterisasi Sampel

Karakterisasi sampel kering dilakukan meliputi beberapa parameter yaitu kadar abu total; kadar abu tidak larut asam; kadar sari larut air; kadar sari larut etanol dan susut pengeringan. Semua parameter tersebut dilakukan berdasarkan metode standar baku yang merujuk pada Farmakope Herbal Indonesia tahun 2017 [11].

Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Sebanyak 100 gram serbuk *Eucheuma cottonii* dimasukan kedalam maserator kemudian ditambahkan 500 mL etanol 70%. Perendaman dilakukan selama 3×24 jam dan dilakukan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak dikumpulkan dengan cara disaring dan dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental *Eucheuma cottonii*.

Ekstrak kental difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan tiga jenis pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda yaitu n-heksana p.a, etil asetat p.a, dan metanol 20%. Pada masing-masing pelarut dilakukan pengulangan sebanyak 3x. Fraksi yang dihasilkan dari masing masing pelarut dipisahkan dengan corong pisah dan diuapkan kembali hingga menjadi fraksi kental menggunakan bantuan gas nitrogen.

Karakterisasi Ekstrak

Ekstrak dan fraksi yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan silika gel F254 sebagai fase diam dan campuran beberapa pelarut organik sebagai fase gerak (eluen). Ekstrak dan fraksi ditotolkan pada fase diam kemudian dimasukkan kedalam chamber yang telah dijenuhkan oleh eluen dan dielusi sampai tanda batas. Plat KLT hasil pemisahan dikeringkan dan disemprot menggunakan beberapa penampak bercak yaitu Dragendroff untuk mengetahui senyawa alkaloid, FeCl_3 untuk mengetahui senyawa fenol, Lieberman-Bouchardat untuk mengetahui senyawa steroid/terpenoid, vanillin H_2SO_4 untuk mengetahui senyawa saponin dan senyawa flavonoid menggunakan penampak bercak sitroborat/

$AlCl_3$ kemudian diamati dibawah sinar lampu UV 254 nm dan 366 nm. Nilai Rf dihitung dari masing-masing bercak [12].

Uji Aktivitas Antibakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil Sebanyak dua ose bakteri uji yang sudah hasil diremajakan kemudian disuspensikan pada 2 mL NaCl fisiologis dalam tabung reaksi steril. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex selama lima belas detik, lalu dilihat kekeruhannya dibandingkan dengan kekeruhan standar 0,5 Mc. Farland I (konsentrasi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL).

Media MHB dibuat dengan menimbang sebanyak 2,1 gram MHB dilarutkan dengan 100 mL aquades, kemudian dididihkan di atas penangas sambil diaduk sampai mendidih. Media MHA dibuat dengan cara sebanyak 3,8 gram MHA ditimbang lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades. Larutan tersebut kemudian diaduk sambil dipanaskan dan dibiarkan mendidih. Medium MHA dan MHB disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ tekanan 1 atm selama 15 menit [13].

Larutan uji ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat dan methanol dari *Eucheuma cottonii* dibuat dengan cara menimbang sebanyak 20 mg ekstrak dan kemudian dilarutkan dalam 2 mL DMSO (dimethylsulfoxide) 5%. Larutan uji disonikasi selama 15 menit hingga homogen. Konsentrasi larutan uji yaitu 10.000 ppm kemudian dilakukan pengenceran sesuai dengan konsentrasi larutan uji yang dibutuhkan.

Uji Aktivitas Antibakteri dilakukan menggunakan metode mikrodilusi dan difusi cakram kertas. Penetapan konsentrasi hambat minimum (KHM) menggunakan metode mikrodilusi cair dengan menggunakan microplate yang terdiri dari 8 baris dan 12 kolom sehingga terdapat 96 sumur *microplate*. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 100 μL MHB pada kolom pertama sebagai kontrol negatif media. Kemudian ditambahkan 5 μL suspensi bakteri uji ke dalam 10 ml MHB, diaduk menggunakan alat vortex. Setelah itu, dimasukkan media yang telah dicampur dengan suspensi bakteri sebanyak 100 μL pada kolom yang kosong (kolom ke-2 hingga 12), dan ditambahkan larutan ekstrak dan fraksi dari *Eucheuma cottonii* yang telah diencerkan pada kolom ke-12, serta dihomogenkan. Kemudian diambil sebanyak 100 μL dan dipindahkan ke kolom ke-11. Pengenceran terus dilakukan sampai pada kolom ke-3 yang merupakan konsentrasi terkecil. Kolom ke-3 akan memiliki konsentrasi ekstrak yang terendah. Setelah itu diinkubasi microplate pada suhu $37^\circ C$ selama 24 jam

Nilai konsentrasi bunum minimum (KBM) ditentukan dengan melakukan penggoresan dari hasil dilusi yang menunjukkan KHM dan pada konsentrasi diatas KHM atau tidak menunjukkan pertumbuhan (bagian yang jernih), diambil masing-masing 5 μL lalu ditanamkan pada media MHA padat. Selanjutnya menyiapkan media yang telah dicampur dengan bakteri uji, kemudian menyiapkan cawan menjadi empat bagian, setelah itu celupkan cakram kertas kedalam ekstrak *Eucheuma cottonii*, kemudian simpan cakram yang telah berisi ekstrak kedalam media yang telah disiapkan sebelumnya. Cawan petri diinkubasi pada suhu $37^\circ C$ selama 18-24 jam. KBM ditentukan apabila tidak ada pertumbuhan pada permukaan media yang ditandai dengan adanya zona bening pada cakram di dalam cawan [13].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Makroalga *Eucheuma cottonii* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari hasil budidaya rumput laut di Pantai Onaria, Desa. Tri Dharmayoga Kec. Ketapang, Lampung-Selatan, Bandar Lampung, Indonesia. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Herbarium Zoologi SITH, Institut Teknologi Bandung. Makroalga *Eucheuma cottonii* mempunyai ciri fisik diantaranya memiliki permukaan yang licin, *thallus* silindris, *cartilogeneus* (Gambar 1.). Percabangan *thallus* meruncing, ditumbuhi noduls serta duri yang tumbuh untuk melindungi *gametangia*. Percabangan berjenis *dichotomus/trichotomus*. Karakteristik *thallus Eucheuma cottonii* memiliki pigmen fikobilin dari fikoerithin warnanya merah bersifat adaptasi kromatik. Proporsi pigmen bisa memunculkan sejumlah warna thalli misalnya merah tua, coklat, violet, hijau, merah muda [14].



Gambar 1. Makroalga *Eucheuma cottonii*

Penyiapan sampel diawali dengan proses delignifikasi pada makroalga *Eucheuma cottonii*. Perlakuan delignifikasi sebelum proses ekstraksi ini bertujuan agar pelarut dapat terpenetrasi dengan baik sehingga diharapkan senyawa aktif akan lebih terekstrak dan diperoleh rendemen yang cukup tinggi. Rumput laut mengandung senyawa koloid yang disebut fitokoloid yakni agar, alginat, dan karaginan yang pada penelitian sebelumnya diketahui dapat menghambat proses ekstraksi. Selain itu rumput laut juga mengandung senyawa polisakarida, selulosa yang hadir sebagai glukukan serta terdapat lignin yang cukup tebal [15]. Tahapan preparasi yang dilakukan yaitu perendaman dengan CaCO_3 dan NaOH . Perendaman CaCO_3 bertujuan untuk menghilangkan kandungan garam yang terkandung pada rumput laut, yang dimana kandungan garam yang berlebih dapat mengurangi penetrasi perendaman NaOH yang berlangsung. Perendaman dengan NaOH dilakukan untuk merusak struktur lignin yang menutupi dinding sel yang ditandai dengan berubahnya tekstur sampel menjadi lebih lunak sehingga metabolit yang terkandung didalamnya dapat terbawa atau terpenetrasi oleh pelarut pada saat proses ekstraksi.

Pembilasan dengan air hangat bertujuan untuk menghilangkan NaOH yang masih menempel setelah perendaman karena dengan air hangat meningkatkan kelarutan dari NaOH sehingga memudahkan proses pembilasan.

Karakterisasi Sampel

Karakterisasi sampel dilakukan untuk mengetahui kualitas dan mutu dari sampel yang digunakan. Karakterisasi sampel yang dilakukan diantaranya kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan susut pengeringan. Hasil karakterisasi sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Karakterisasi Sampel

Parameter pengujian	Hasil (% b/b)
Kadar Abu Total	17
Kadar Abu Tidak Larut Asam	1
Kadar Sari Larut Air	17
Kadar Sari Larut Etanol	6
Susut Pengeringan	7,33

Penetapan kadar abu berfungsi sebagai parameter rentang dari kandungan mineral internal dan eksternal yang diperbolehkan dalam sampel kering [16]. Penetapan kadar abu total menunjukkan kandungan senyawa anorganik yang diperoleh dari makroalga *Eucheuma cottonii*. Hasil penetapan kadar abu total simplisia dari *Eucheuma cottonii* yaitu sebesar 17%. Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa anorganik yang tidak larut dalam asam [11]. Asam yang digunakan dalam melarutkan abu yaitu asam klorida 10%. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam dari makroalga *Eucheuma cottonii* sebesar 1%.

Pemantauan kadar sari bertujuan untuk mengetahui jenis kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam sari sampel kering. Salah satu parameter uji bahan baku obat tradisional yang ditetapkan yaitu kadar sari dalam pelarut tertentu, karena jumlah kandungan senyawa kimia dalam sari sampel kering akan berkaitan dengan hasil aktivitas farmakodinamik sampel kering [17]. Kadar sari larut air menunjukkan dari jumlah senyawa kandungan dalam sampel kering yang dapat larut oleh air atau pelarut yang bersifat polar sedangkan kadar sari larut etanol memberikan gambaran awal dari jumlah senyawa pada sampel yang dapat larut oleh etanol atau pelarut yang bersifat kurang polar [16]. Hasil penetapan kadar sari larut air makroalga *Eucheuma cottonii* sebesar 17% sedangkan kadar sari larut etanol adalah 6%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tingginya kandungan senyawa yang larut dalam air lebih tinggi dibanding senyawa yang larut dalam etanol, mengindikasikan bahwa senyawa yang bersifat polar lebih banyak terkandung dalam sampel kering dibandingkan senyawa yang bersifat kurang polar. Analisis susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batas maksimal besarnya senyawa yang hilang

pada saat proses pengeringan [16]. Hasil susut pengeringan dari sample kering makroalga *Eucheuma cottonii* sebesar 7,33 % (g/g). Farmakope Herbal Indonesia mensyaratkan susut pengeringan dari sampel kering suatu tanaman tidak boleh lebih dari 10%.

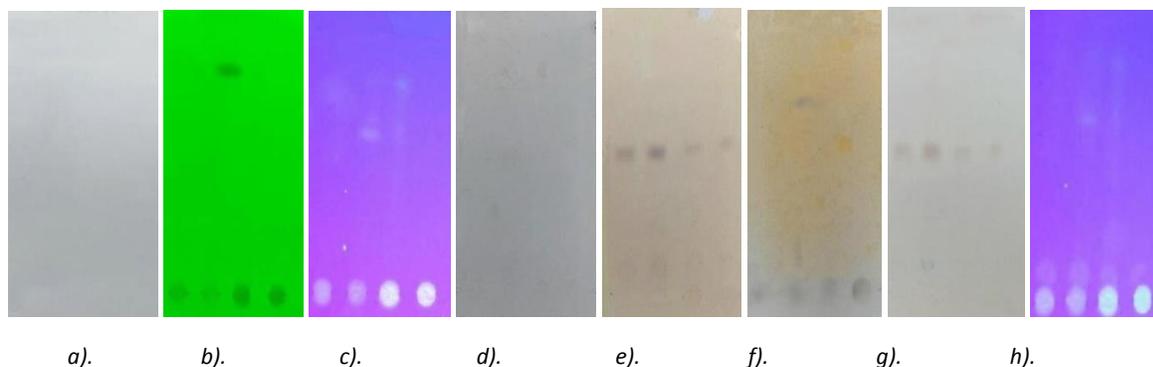
Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Metode maserasi dipilih karena pertimbangan stabilitas metabolit sekunder yang akan di ekstrak, diharapkan senyawa yang memiliki sifat termolabil bisa ikut terekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut etanol 70% karena metabolit sekunder yang terkandung lebih banyak yang bersifat polar sehingga metabolit sekunder yang tertarik lebih banyak. Hal ini didukung dengan hasil kadar sari yang dihasilkan lebih besar dari pada kadar sari larut etanol. Pelarut etanol dipilih karena pertimbangan keamanan toksisitas jika dibandingkan dengan metanol. Nilai rata-rata rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 27,96 %. Hal ini menunjukkan bahwa proses delignifikasi dapat meningkatkan hasil rendemen ekstraksi dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya tanpa proses delignifikasi yang hanya memperoleh 3,23 % rendemen ekstrak [18].

Fraksinasi dilakukan dengan metode ECC menggunakan tiga jenis pelarut berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, pelarut yang dipakai yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol-air. Rendemen fraksi yang diperoleh secara berturut-turut adalah 1,15%; 2,03% dan 91,66%. Rendemen dari fraksi metanol-air merupakan hasil terbesar hal ini dimungkinkan karena komponen senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol *Eucheuma cottonii* lebih tertarik ke dalam pelarut polar. Pemekatan hasil fraksi dilakukan dengan dua cara, yang pertama dialiri gas nitrogen (N₂) untuk pelarut non polar dan semi polar, sedangkan pelarut polar metanol air dilakukan pemekatan menggunakan proses penguapan dengan cawan uap dengan suhu tidak lebih dari 50°C. Pemekatan fraksi tidak dilakukan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghindari pemanasan yang dapat merusak sampel khususnya pada pelarut non polar dan semi polar.

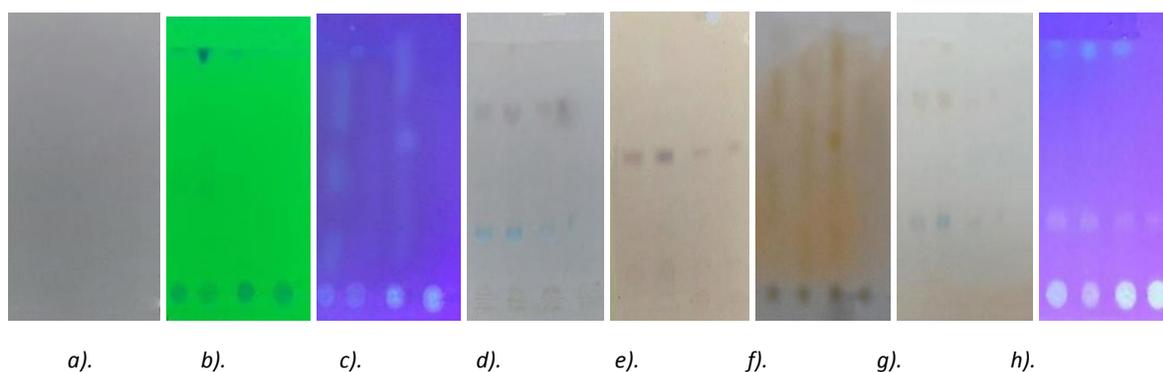
Pemantauan Ekstrak

Pemantauan ekstrak dilakukan menggunakan metode KLT untuk melihat pola kromatogram dan mengetahui senyawa yang terkandung secara kualitatif dengan memisahkan sampel berdasarkan kepolarannya. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄, sedangkan fase gerak yang digunakan menggunakan tiga eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Eluen non polar yang memberikan profil kromatogram optimum adalah kombinasi antara pelarut n-heksana-etil (7:3)(Gambar 2); untuk eluen semi polar menggunakan pelarut kloroform-etil asetat (7:3) (Gambar 3) serta pengembang polar menggunakan kombinasi pelarut etil asetat-asam format-air (8:1:1) (Gambar 4). Pengamatan dilakukan secara visual, dibawah lampu UV 254 nm dan UV 365 nm, kemudian disempotkan dengan penampak bercak H₂SO₄ 10%, FeCl₃, Lieberman-Bouchardat, Dragendorff dan sitroborat.



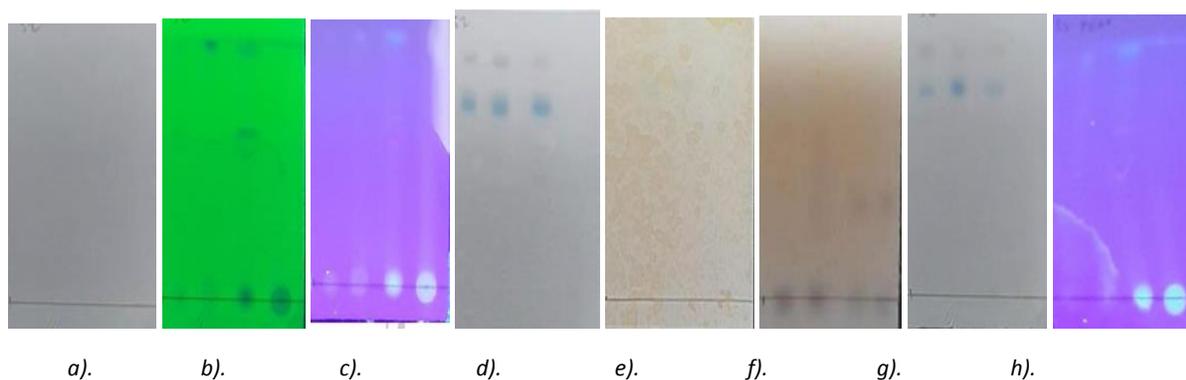
Gambar 2. Pemantauan ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii* pada pengembang non-polar

a). Visual; b). sinar UV 254 nm; c). sinar UV 365nm; d). penampak bercak H_2SO_4 10%; e). penampak bercak $FeCl_3$; f). penampak bercak dragendorff; g). penampak bercak lieberman-bucard ; h). penampak bercak sitoborat



Gambar 3. Pemantauan ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii* pada pengembang semi-polar

a). Visual; b). sinar UV 254 nm; c). sinar UV 365nm; d). penampak bercak H_2SO_4 10%; e). penampak bercak $FeCl_3$; f). penampak bercak dragendorff; g). penampak bercak lieberman-bucard ; h). penampak bercak sitoborat



Gambar 4. Pemantauan ekstrak dan fraksi makroalga *Eucheuma cottonii* pada pengembang polar

a). Visual; b). sinar UV 254 nm; c). sinar UV 365nm; d). penampak bercak H_2SO_4 10%; e). penampak bercak $FeCl_3$; f). penampak bercak dragendorff; g). penampak bercak lieberman-bucard ; h). penampak bercak sitoborat

Keterangan:

Posisi penotolan 1 = Fraksi n-Heksana
 2 = Fraksi Etil asetat
 3 = Fraksi Metanol-air
 4 = Ekstrak Etanol

Tabel 2. Hasil Identifikasi Senyawa pada Pemantauan KLT

Golongan senyawa	F. N-heksana			F. Etil-asetat			F. MeOH-air			Ekstrak EtOH		
	NP	SP	P	NP	SP	P	NP	SP	P	NP	SP	P
Flavonoid	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
Alkaloid	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-
Fenol	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Steroid/Terpenoid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Hasil pemantauan ekstrak pada UV 254 nm, plat KLT akan berfluoresensi hijau dan bercaknya akan menimbulkan bercak gelap. Sebaliknya dibawah UV 366 nm memberikan latar yang gelap dengan bercak yang berfluoresensi [19]. Penampak bercak universal H_2SO_4 10% akan menghasilkan bercak berwarna hitam yang akan semakin tampak setelah dipanaskan. Ekstrak dan fraksi positif flavonoid, hasil positif ditunjukkan dengan warna bercak berwarna kuning pada sinar UV 365 nm setelah pemanasan pada saat penyemprotan pereaksi sitoborat/ $AlCl_3$. Ekstrak dan fraksi menunjukkan hasil positif alkaloid, ditunjukkan dengan perubahan warna bercak menjadi coklat kehitaman dengan latar kuning pada penampakan visual setelah pemanasan pada saat penyemprotan pereaksi dragendorf. Ekstrak dan fraksi menunjukkan hasil positif fenol, ditunjukkan dengan perubahan warna bercak menjadi kehitaman setelah pemanasan pada saat penyemprotan dengan pereaksi $FeCl_3$ [20]. Pada pemantauan steroid dan triterpenoid ekstrak dan fraksi menunjukkan hasil positif namun dari keempat sampel, senyawa steroid hanya teridentifikasi pada fraksi etil asetat saja, ditunjukkan dengan perubahan warna bercak menjadi warna biru keunguan.

Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Konsentrasi larutan uji dari ekstrak dan fraksi menggunakan faktor pengenceran paling tinggi sebesar 10.000 ppm hingga konsentrasi terkecil sebesar 19,5312 ppm. Perbandingan yang digunakan adalah klindamisin dengan konsentrasi sebesar 2% disesuaikan dengan kandungan obat yang beredar di pasaran, sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah DMSO 5% [13]. Pengujian dilakukan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* sebagai bakteri penyebab jerawat.

Propionibacterium acnes

Hasil pengujian menunjukkan bahwa baik ekstrak maupun fraksi rumput laut *Eucheuma cottonii* menunjukkan adanya zona bening, hal tersebut membuktikan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionobacterium acnes*.

Tabel 3. Hasil Pengujian Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acnes*

Larutan Uji	Konsentrasi											
	K (-)	K (+)	19.531 2 ppm	39.0625 ppm	78.125 ppm	156.25 ppm	3.125 ppm	625 ppm	1250 ppm	2500 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Ekstrak	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
F. Met-air	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
F. Etil asetat	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
F. N-Heksan	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	K (-)	K (+)	39.062 5 ppm	78.125 ppm	156.25 ppm	312.5 ppm	625 ppm	1250 ppm	2500 ppm	5000 ppm	10000 ppm	20000 ppm
Klind- 2%	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

K : Kontrol

+

-

1% : 10.000 ppm -> 2% = 20.000 ppm

Hasil data pengujian dapat diketahui bahwa semua larutan uji memiliki nilai KHM, yang dibuktikan dengan adanya zona bening dari ekstrak dan fraksi dengan nilai konsentrasi berturut-turut; ekstrak berada diatas 1250 ppm, fraksi metanol air diatas 1250 ppm, fraksi etil asetat diatas 2500 ppm sedangkan fraksi n-heksana diatas 2500 ppm. Nilai KHM untuk pembanding klindamisin berada pada konsentrasi diatas 625 ppm.

Pada penentuan nilai KBM baik ekstrak maupun fraksi *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* belum bisa ditentukan, aliquot yang dihasilkan dari zona bening saat pengujian ditanamkan pada media agar belum bisa membunuh bakteri. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak maupun fraksi dengan konsentrasi 10.000 ppm hanya menunjukkan sifat bakteriostatik, perlu peningkatan konsentrasi larutan uji. Sedangkan nilai KBM antibiotik pembanding klindamisin 2% dapat diketahui dengan hasil pengujian konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri berada pada 2500 ppm atau setara dengan 0,25% sudah bisa membunuh bakteri ditandai dengan tidak adanya bakteri yang hidup pada media agar.

Staphylococcus epidermidis

Hasil pengujian menunjukkan bahwa baik ekstrak maupun fraksi rumput laut *Eucheuma cottonii* menunjukkan adanya zona bening, hal tersebut membuktikan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Tabel 4. Hasil Pengujian Antibakteri Terhadap *Staphylococcus epidermidis*

Larutan Uji	Konsentrasi											
	K (-)	K (+)	19.531 2 ppm	39.0625 ppm	78.125 ppm	156.25 ppm	3.125 ppm	625 ppm	1250 ppm	2500 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Ekstrak	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
F. Met-air	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
F. Etil asetat	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F. N-Heksan	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	K (-)	K (+)	39.062 5 ppm	78.125 ppm	156.25 ppm	312.5 ppm	625 ppm	1250 ppm	2500 ppm	5000 ppm	10000 ppm	20000 ppm
Klind- 2%	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

K : Kontrol

+ : Zona bening/Tidak ada pertumbuhan bakteri

- : Terdapat pertumbuhan bakteri

1% : 10.000 ppm -> 2% = 20.000 ppm

Hasil data pengujian dapat diketahui bahwa semua larutan uji memiliki nilai KHM, nilai KHM dibuktikan dengan adanya zona bening dari ekstrak dan fraksi dengan nilai konsentrasi berturut-turut; ekstrak berada diatas 1250 ppm, fraksi metanol air diatas 10.000 ppm, sedangkan pada fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana tidak terdapat zona bening. Nilai KHM untuk pembandingan klindamisin berada pada konsentrasi diatas 625 ppm.

Pada penentuan nilai KBM baik ekstrak maupun fraksi *Eucheuma cottonii* terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* belum bisa ditentukan, aliquot yang dihasilkan dari zona bening saat pengujian ditanamkan pada media agar belum bisa membunuh bakteri. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak maupun fraksi dengan konsentrasi 10.000 ppm hanya menunjukkan sifat bakteriostatik, perlu peningkatan konsentrasi larutan uji. Sedangkan nilai KBM antibiotik pembandingan klindamisin 2% dapat diketahui dengan hasil pengujian konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri berada pada 2500 ppm atau setara dengan 0,25% sudah bisa membunuh bakteri ditandai dengan tidak adanya bakteri yang hidup pada media agar.

KESIMPULAN

Berdasarkan paparan diatas dapat disimpulkan bahwa preparasi sampel berupa delignifikasi terbukti dapat meningkatkan hasil rendemen ekstrak yaitu dari 3, 27% menjadi sebesar 27,96 %. Ekstrak etanol *Eucheuma cottonii* menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik terhadap kedua bakteri penyebab jerawat yaitu *P. acnes* dan *S.epidermidis*. Fraksi metanol air menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri penyebab jerawat sedangkan untuk fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan hanya menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* saja. Nilai KHM dari masing-masing ekstrak dan fraksi terhadap *Propionibacterium. acnes* ekstrak berada diatas 1250 ppm, fraksi metanol air diatas 1250 ppm, fraksi etil asetat diatas 2500 ppm sedangkan fraksi N-heksan diatas 2500 ppm, sedangkan pada *Staphylococcus epidermidis* ekstrak berada diatas 1250 ppm, fraksi metanol air diatas 5000 ppm, sedangkan pada fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana tidak terdapat zona bening.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis ucapkan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi (Kemdikbudristek) atas pendanaan penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula (Nomor : 0032/E5/PG.02.00/2022).

DAFTAR RUJUKAN

1. Maharany F, Nurjanah, Suwandi R, Anwar E, H. T. K. Kandungan Senyawa Bioaktif Rumput Laut Padina australis dan *Eucheuma cottonii* Sebagai Bahan Baku Krim Tabir Surya. *Jphpi*. 2017, 20(1), 10–17.
2. Fathmawati D, Abidin MRP, Roesyadi A. Studi Kinetika Pembentukan Karaginan Dari Rumput Laut. *Jurnal Teknik Pomits*. 2014. 3(1): 27-32.
3. Silvia, M. *Studi Kultivasi Dan Ekstraksi Lipid Dari Mikroalga Botryococcus braunii Dengan Metode Maserasi, Sokhletasi, Perkolasi, Osmotik*. Politeknik Negeri Sriwijaya. 2016, 201, 4–24.
4. Istifada, D. S., & Saptarini, N. M. Aktivitas Senyawa Bioaktif Alga Merah (Rhodophyta) Sebagai Antimikroba. *Farmaka*. 2013, 16(1), 367–373.
5. Nurmala, N., Virgiandhy, I. G. N., Andriani, A., & Liana, D. F. Resistensi dan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik di RSUD dr. Soedarso Pontianak tahun 2011-2013. *EJournal Kedokteran Indonesia*. 2015, 3(1) DOI:10.23886/ejki.3.4803.
6. Yulianti, Asmawati, Yunianti, & Manguntungi, B. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah dari Pantai Luk, Sumbawa terhadap Salmonella thypi dan Staphylococcus aureus thypi and Staphylococcus aureus Pendahuluan Metode Penelitian*. 2018, 3(1), 1–11.
7. Andriani, Z., Fasya, A. G., & Hanapi, A. Antibacterial Activity of the Red Algae *Eucheuma cottonii* Extract from Tanjung Coast, Sumenep Madura. *Alchemy*. 2016, 4(2), 93. <https://doi.org/10.18860/al.v4i2.3197>
8. Wahdaningsih, S., Untari, E.K. dan Fauziah, Y. Antibakteri Fraksi n-heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Pharm Sci Res*. 2014, 1(3), 180–183.
9. Kurnia, D., Bella Mustika Sari, F., & Budiana, W. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Mikroalga *Navicula salinicola* terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jkk.Unjani.Ac.Id*. 2020, 3(2), 53–59. <http://jkk.unjani.ac.id/index.php/jkk/article/view/65>

10. Habibah, H. Adi, T.K., Fauziah, B., Fitriyaningsih, A.A. Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Alga Merah *Eucheuma Spinosum* Pantai Lobuk Madura terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim 2012.
11. *Farmakope Herbal Indonesia* (II). Kementrian Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta, Indonesia; 2017.
12. Rusli. Profil Bioautogram Aktivitas Antibakteri Ekstrak Isolat Jamur Laut Pada Algae *Kappaphycus alvarezii* Secara KLT Bioautografi. *J. As-Syifaa* Desember 2017, 09 (02), 173-181.
13. NCCLS. *Methods For Dilution Antimicrobial Susceptibility Test For Bacteria That Grow Aerobically*. Approved Standard-Eight Edition; 2009.
14. Anggadiredja, T. dkk. P. S. J. *Rumput Laut*. Swadaya: Jakarta, Indonesia; 2006.
15. Rahmayuni, F., Nasra, E., & Putra, A. Preparasi dan Karakterisasi Komposit Selulosa Bakterial–Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) Untuk Aplikasi Biomedis. *Periodic*. 2016, 5(2), 1–8. <http://103.216.87.80/index.php/kimia/article/view/108526>
16. Depkes RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat. In De: Indonesia; 2000, 1, 10–11
17. Suryadini, H. Uji Parameter Standard Dan Penapisan Fitokimia Pada Daun Steril Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd.) Menggunakan Ekstraksi Bertingkat. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 2019, 2(1), 40-51. <https://doi.org/10.29313/jiff.v2i1.3968>
18. Kurnia, Dewi., Suhardiman, Aris., Nurdiansyah, Hedy., Ghazhali, M. Antibacterial Activity Of *Eucheuma Cottoni* Extract And Fraction Against Acne-Causing Bacteria. *Jurnal Agrotek UMMAT*. 2022, 9(2), 88-94.
19. Forestryana D, Arnida. Phytochemical Screenings And Thin Layer Chromatography Analysis Of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea spinosa* L.) *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari Journal Homepage*. 2020, 11(2), 113-124. <https://journal.uniga.ac.id/index.php/JFB>
20. Yuda, P. E. S. K., Cahyaningsih, E., Winariyanthi, N. L. P. Y. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Medicamento*. 2017, 3(2), 61-70.