**PRODUKSI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIMIKROBA
DARI MIKROALGA *TETRASELMIS CHUII* DENGAN METODE UAE
(KAJIAN JENIS PELARUT DAN JUMLAH SIKLUS EKSTRAKSI)**

***Production and Identification of Antimicrobial Compounds from Microalgae
Tetraselmis chuii with UAE Method (Study Type of Solvent and Total Cycle Extraction)***

Jaya Mahar Maligan*, Heni Adhianata, Elok Zubaidah
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi: email: maharajay@gmail.com

ABSTRAK

Pada ekosistem air, mikroalga merupakan penghasil alami energi dan senyawa metabolit potensial. Mikroalga ekstraseluler memiliki fungsi sebagai penghambat dan memicu pertumbuhan senyawa. *Tetraselmis chuii* memiliki komponen bioaktif seperti asam lemak dan ester yang digunakan sebagai agen antibakteri. Antimikroba adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh metode ekstraksi, berbagai pelarut, dan kondisi ekstraksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi tentang penggunaan berbagai pelarut dan ekstraksi siklus total terhadap hasil ekstrak *Tetraselmis chuii*, mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak *Tetraselmis chuii* terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *A. flavus* dan *C. Albicans*, dan mengidentifikasi senyawa bioaktif ekstrak *Tetraselmis chuii* yang bertindak sebagai agen antimikroba dengan menggunakan metode GC-MS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen tertinggi dihasilkan dari pelarut aseton pada 3 siklus ekstraksi, yaitu sebesar 35.19%. Uji aktivitas antimikroba terbaik menghasilkan ekstrak dari pelarut kloroform dengan ekstraksi 3 siklus dengan diameter zona hambatan 16.43 mm pada *S.aureus*, 16.07 mm pada *E. coli*, 15.46 mm di *C. albicans*, dan 15.8 mm di *A.flavus*. Senyawa bioaktif dari ekstrak *Tetraselmis chuii* berpotensi sebagai senyawa antimikroba, termasuk asam lemak, ester, alkohol, keton, *benzene*, dan alkana

Kata kunci : Antimikroba, Mikroalga, Senyawa Bioaktif, *Tetraselmis chuii*

ABSTRACT

In the water, microalgae is a natural producer of energy and potential metabolites compounds. Microalgae act like an inhibitory and trigger growth compounds. Tetraselmis chuii have bioactive component such as fatty acids and esters used to antibacterial agent. Antimicrobial agent is a compound that can inhibit the growth of microbial. The extraction process are affected by the extraction method, various of solvents, and extraction condition. This study is to gain more insight into the using of different solvent and total cycle extraction of Tetraselmis chuii extract, to investigate the antimicrobial activity of Tetraselmis chuii extract against S. aureus, E. coli, A. flavus, and C. Albicans, and also identify the bioactive compounds of Tetraselmis chuii extract that act as antimicrobial agents using GC-MS method. The result showed that the highest rendement come from acetone solvents on 3 cycle extraction, 35.19%. The best antimicrobial activity testing is the extract from chloroform solvent with 3 cycle extraction with a diameter of inhibition zone 16.43 mm in S.aureus, 16.07 mm in E. coli, 15.46 mm in C. albicans, and 15.8 mm in A.flavus. Bioactive compounds of Tetraselmis chuii extract has the potential as antimicrobial compounds, including of fatty acids, esters, alcohols, ketones, benzene, and alkanes

Keywords: Antimicrobial, Bioactive Compound, Microalgae, *Tetraselmis chuii*

PENDAHULUAN

Pada lingkungan perairan, mikroalga sebagai produsen alami ekosistem perairan yang dapat menghasilkan energi dan metabolit yang bermanfaat. Produk ekstraseluler mikroalga dapat berupa senyawa penghambat dan pemacu pertumbuhan. Mikroalga juga berpotensi menghasilkan komponen bioaktif untuk bahan farmasi, kedokteran, industri pangan, dan sebagainya (Prakash *et al.*, 2011; Herrero *et al.*, 2015; Singh dan Saxena, 2015; Barba, 2016).

Tetraselmis chuii (*T. chuii*) termasuk mikroalga hijau yang mengandung protein, lemak, asam lemak esensial, dan sterol (Makridis *et al.*, 2006). Selama ini pemanfaatan mikroalga *T. chuii* masih sebatas sebagai pakan ikan, padahal mikroalga ini memiliki manfaat yang lebih banyak seperti misalnya sebagai solusi masalah pencemaran lingkungan, produk pangan, senyawa nutritif, asam lemak, pakan ternak, sumber energi (meliputi gas aviasi, biodiesel, gasoline, dan bioetanol), pupuk organik, *biodegradable* plastik, pigmen, obat-obatan, dan vaksin (Pulz dan Gross, 2004).

Beberapa penelitian menyatakan bahwa senyawa-senyawa yang dihasilkan dari metabolit mikroalga memiliki aktivitas biologi seperti antibakteri, antivirus, anti-tumor, dan antikoagulasi (Athukorala *et al.*, 2007). Antimikroba merupakan suatu zat atau komponen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri/kapang (bakteristatik atau fungistatik) hingga membunuh bakteri atau kapang (bakterisidal atau fungisidal) (Zheng *et al.*, 2013). Menurut Agustini (2010), dalam penelitiannya menyebutkan bahwa *T. chuii* memiliki komponen bioaktif dari golongan asam lemak dan ester yang dapat digunakan sebagai senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.

Proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut, metode ekstraksi, waktu ekstraksi, dan kondisi ekstraksi. Waktu ekstraksi yang pendek akan memberikan hasil yang rendah, sebab tidak semua senyawa terekstrak sempurna. *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik, yaitu gelombang suara dengan frekuensi tinggi diatas 20 kHz (Mason dan Lorimer, 2002). Kuldi-loke (2002) menyebutkan metode ultrasonik dapat mempercepat proses ekstraksi. Oleh karena itu, penting untuk dilakukan proses

ekstraksi senyawa bioaktif mikroalga *T. chuii* dengan menggunakan metode UAE dan mengidentifikasi senyawa antimikroba ekstrak tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroalga *T. chuii* yang diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Bahan organik yang digunakan sebagai pupuk sebagai nutrisi pertumbuhan mikroalga, yaitu urea, TSP, ZA, FeCl₃, dan EDTA. Bahan-bahan lain yang digunakan seperti akuades, aseton, metanol, kloroform, alkohol 70%, spirtus, kertas cakram, kertas saring, dan gas N₂. Media pertumbuhan *Nutrient Agar* (NA), *Potatoes Dextrose Agar* (PDA), *Nutrient Broth* (NB), dan *Potatoes Dextrose Broth* (PDB). Mikroorganisme uji yang digunakan adalah bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus*, bakteri Gram-negatif *Escherichia coli*, kapang *Aspergillus flavus*, dan khamir *Candida albicans*.

Alat

Peralatan yang digunakan adalah autoklaf, toples bening dengan kapasitas volume 16 l, lampu TL 6000 lux, aerator, selang aerator, gelas arloji, spatula, gelas ukur, beaker glass 500 ml, timbangan analitik, beaker glass, gelas ukur, spatula, pipet volume, pipet tetes, sentrifuse dingin (Hermle Z300K), *aluminium foil*, *rotary vacuum evaporator* (Buchi Switzzarland, R200), botol kaca ukuran 10 ml, sonikator, gelas arloji, bola hisap, kompor listrik, cawan petri, kertas payung, plastik, karet, mikropipet 10 µl, 100 µl, dan 1000 µl, tip untuk mikropipet, bunsen, kertas cakram, *hockey glass*, botol semprot, jarum ose, pinset, inkubator, jangka sorong serta *Laminar Air Flow* (LAF), dan GC-MS (Agilent 5972).

Metode

Rancangan Percobaan

Metode penelitian dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor yang masing-masing faktor terdiri dari tiga level dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga didapatkan 27 satuan percobaan. Faktor tersebut adalah jenis pelarut yaitu aseton, metanol, kloroform, dan faktor kedua adalah jumlah

Tabel 1. Hasil analisis sidik ragam rendemen ekstrak antimikroba dari mikroalga *T. chuii*

Jenis Pelarut	Siklus Ekstraksi	Rendemen Ekstrak (%)	Notasi	RP DMRT 5%
Aseton	1	31.17	d	1.13999
	2	33.69	ef	1.15294
	3	35.19	h	1.15294
Metanol	1	32.98	e	1.14970
	2	34.42	fg	1.15294
	3	35.05	gh	1.15294
Kloroform	1	18.01	a	1.05578
	2	22.24	b	1.09788
	3	25.95	c	1.12379

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa aktif ekstrak mikroalga *T.chuii* dengan pelarut aseton menggunakan metode GC-MS

Nomor Puncak	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	%
1	<i>Methylbenzene</i>	C_7H_8	7.81
2	<i>4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone; diacetone alcohol</i>	$C_6H_{12}O_2$	53.61
3	<i>Ethylene glycol butyl ether</i>	$C_6H_{14}O_2$	32.11
4	<i>3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one</i>	$C_9H_{14}O$	6.41

Gambar 1. Grafik perbandingan aktivitas senyawa antibakteri ekstrak mikroalga *T.chuii* terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*

Keterangan gambar : P1 = menggunakan pelarut aseton; P2 = menggunakan pelarut metanol; P3 = menggunakan pelarut klororoform; T1 = 1 siklus ekstraksi (15 menit); T2 = 2 siklus ekstraksi (30 menit); T3 = 3 siklus ekstraksi (45 menit)

Tabel 3. Hasil identifikasi senyawa aktif ekstrak mikroalga *T.chuii* dengan pelarut metanol menggunakan metode GC-MS

Nomor Puncak	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	%
3	Palmitic acid, methyl ester; hexadecenoic acid methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	4.16
9	Hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	26.39
8	Oleic acid; 9-octadecenoic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	9.06
4	9-hexadecenoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	7.57
5	Hexadecanoic acid; palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	18.36
7	9-octadecenoic acid, methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	13.88
10	1,2-benzenedicarboxylic acid, dioctyl ester	$C_{24}H_{38}O_4$	3.26

Tabel 4. Hasil identifikasi senyawa aktif ekstrak mikroalga *T.chuii* dengan pelarut kloroform menggunakan metode GC-MS

Nomor Puncak	Jenis Senyawa	Rumus Molekul	%
22	Ethyl linoleate ; 9,12-octadecadienoic acid, ethyl ester	$C_{20}H_{36}O_2$	6.48
9	Palmitic acid, methyl ester; hexadecenoic acid methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	0.37
12	9,12-octadecadienoic acid, linoleic acid	$C_{25}H_{38}O_2$	0.74
15	Hexadecanoic acid, ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	3.48
14	n-hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	8.25
17	hexadecanoic acid; palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	0.32
19	n-heneicosane	$C_{21}H_{44}$	1.33
25	n-docosane	$C_{22}H_{46}$	1.65
26	n-tricosane	$C_{23}H_{48}$	1.90
27	Tetracosane	$C_{24}H_{50}$	2.06
13	9-hexadecenoic acid	$C_{17}H_{32}O_2$	1.29
21	9-octadecenoic acid, methyl ester	$C_{19}H_{36}O_4$	7.92
29	Bis (2-ethylhexyl) phthalate	$C_{24}H_{38}O_4$	1.37
28	n-eicosane	$C_{20}H_{42}$	1.56

Tabel 5. Perbandingan aktivitas antimikroba ekstrak mikroalga *T.chuii* terhadap mikroorganisme uji

Perlakuan		Mikroorganisme Uji			
Jenis Pelarut	Siklus Ekstraksi	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>A.flavus</i>	<i>C.albicans</i>
		d	d	d	d
Aseton	1	12.3	12.07	11.53	10.76
	2	13.13	12.57	12.06	11.63
	3	13.43	12.83	12.26	11.77
Metanol	1	15.16	14.27	12.1	11.66
	2	15.5	14.33	12.76	12.23
	3	16.00	14.96	13.53	13.06
Kloroform	1	11.96	11.13	12.3	11.9
	2	15.43	14.16	14.17	14.16
	3	16.43	16.07	15.18	15.46

siklus ekstraksi yaitu 1 siklus, 2 siklus, dan 3 siklus. Data hasil rendemen ekstrak *T.chuii* dengan analisis ANOVA dan dilakukan uji lanjut DMRT 5% apabila menunjukkan beda nyata. Data pengujian aktivitas antimikroba dan identifikasi senyawa bioaktif dianalisa secara deskriptif eksploratif.

Kultivasi Mikroalga *T.chuii*

Mikroalga *T.chuii* dikultivasi dengan media pertumbuhan berupa air laut steril dengan tingkat salinitas 31 ppt. Perbandingan antara kultur yang ditambahkan dengan air laut steril yaitu 1:10 (v/v). Pemberian pupuk tambahan berupa urea sebanyak 0.08 g/l, TSP 0.015 g/l, ZA 0.02 g/l, FeCl₃ 0.002 g/l, EDTA 0.004 g/l, yang digunakan sebagai nutrisi tambahan untuk pertumbuhan kultur mikroalga. Inkubasi pada suhu ruang dengan penerangan cahaya lampu sebesar 6000 lux dan aerasi sebesar 14 l/menit/l selama 7 hari (Maligan *et al.*, 2015).

Ekstraksi Mikroalga *T.chuii* Metode UAE

Kultur mikroalga yang telah dipanen di sentrifuse dengan menggunakan sentrifuse dingin dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit dan suhu 10 °C untuk memisahkan padatan selnya. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan tiga macam pelarut (aseton, metanol, dan kloroform), dengan rasio biomassa sel dan pelarut masing-masing adalah 1:5 (b/v). Ekstraksi dengan metode sonikasi dengan frekuensi 50 kHz dengan 1 siklus ekstraksi, 2 siklus ekstraksi dan 3 siklus ekstraksi pada suhu ruang. Hasil ekstraksi di sentrifuse dengan menggunakan sentrifuse dingin dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit dan suhu 10 °C untuk memisahkan cairan ekstrak dengan padatan sel yang tidak ikut terekstrak. Penghilangan sisa pelarut dengan cara menguapkan pelarut menggunakan *rotary vacuum evaporator* suhu 35 °C, kecepatan 2, dan tekanan 200 mBar dan dilanjutkan dengan penyemprotan gas N₂ (Philip *et al.*, 2009).

Pengujian Aktivitas Antimikroba Metode Disk Diffusion Agar

Penginkulasian suspensi bakteri/jamur pada permukaan agar dengan metode *spread plate*. Kertas cakram steril (d=6 mm) diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi mikroorganisme uji. Ekstrak antimikroba diteteskan pada masing-masing permukaan kertas cakram sebanyak 10 µl

untuk pengujian pada bakteri dan 20 µl untuk pengujian pada jamur. Inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk bakteri dan suhu 30 °C selama 5 hari untuk jamur. Pengamatan dan pengukuran dilakukan pada zona bening sebagai indikasi adanya aktivitas antimikroba (Jagessar *et al.*, 2008).

Identifikasi Senyawa Bioaktif Metode GC-MS

Pelarut aseton, metanol, dan kloroform digunakan sebagai *blank* sebelum dilakukan injeksi sampel. Injeksi sampel pada kolom kapiler dalam instrumen kromatografi gas. Senyawa volatil dalam sampel akan menguap sesuai dengan titik uap masing-masing senyawa pada waktu retensi yang berbeda dan akan dibawa oleh gas He sebagai gas pembawa. Spektrometer massa akan menangkap dan mendeteksi molekul terionisasi secara terpisah dan memecah molekul masing-masing menjadi terionisasi dan mendeteksi fragmen yang nantinya akan terbaca oleh respon detektor. Identifikasi ini diawali dengan reaksi transmetilasi in situ untuk mempersiapkan ester asam lemak dan dilanjutkan dengan analisis kadar asam lemak dengan GC-MS (Park dan Goins, 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Mikroalga *T. chuii*

Rendemen dengan pelarut aseton dengan tiga siklus ekstraksi menunjukkan hasil rendemen ekstrak tertinggi dibandingkan dengan pelarut metanol dan kloroform, yakni sebesar 35.19%. Menurut Lin dan Giusti (2005), proses ekstraksi dipengaruhi oleh tingkat polaritas dari pelarut. Senyawa polar akan terlarut dalam pelarut polar, atau sebaliknya. Aseton termasuk ke dalam pelarut yang tergolong semi-polar dengan nilai kepolaran sebesar 0.47 °C, sedangkan metanol tergolong kedalam pelarut polar dengan nilai kepolaran sebesar 0.73 °C, serta mempunyai berat molekul yang rendah, yang memudahkan pembentukan ikatan hidrogen dengan air pada jaringan sampel, sehingga banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Lenny dan Zuhra, 2005). Kloroform tergolong dalam pelarut nonpolar sehingga efektif untuk melarutkan

kelompok senyawa organik terutama dalam bentuk senyawa nonpolar. Komponen dalam sel mikroalga yang bersifat lipofilik dapat terekstrak dengan menggunakan pelarut kloroform. Permeabilitas membran sel *T.chuui* berubah karena terdapat kesamaan polaritas antara pelarut dengan dinding sel yang mengakibatkan terekstraksinya komponen sel ke dalam pelarut, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Analisis Senyawa Aktif Ekstrak Antimikroba dari Mikroalga *T. chuui* Metode GC-MS

1. Senyawa Aktif Ekstrak Antimikroba dari Mikroalga *T. chuui* dengan Pelarut Aseton

Hasil pengujian komponen senyawa bioaktif ekstrak mikroalga *T.chuui* dengan menggunakan metode GC-MS menunjukkan terdapat beberapa komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2. Pada Tabel 2 ditunjukkan beberapa jenis senyawa dari

Gambar 2. Zona bening yang dihasilkan pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak mikroalga *T.chuui* terhadap pertumbuhan *E.coli*

Keterangan gambar : P1 = menggunakan pelarut aseton; P2 = menggunakan pelarut metanol; P3 = menggunakan pelarut klororoform; T1 = 1 siklus ekstraksi (15 menit); T2 = 2 siklus ekstraksi (30 menit); T3 = 3 siklus ekstraksi (45 menit)

Gambar 3. Grafik perbandingan aktivitas senyawa antijamur ekstrak mikroalga *T.chuui* terhadap pertumbuhan *C.albicans* dan *A.flavus*

Keterangan gambar : P1 = menggunakan pelarut aseton; P2 = menggunakan pelarut metanol; P3 = menggunakan pelarut klororoform; T1 = 1 siklus ekstraksi (15 menit); T2 = 2 siklus ekstraksi (30 menit); T3 = 3 siklus ekstraksi (45 menit)

mikroalga *T.chuii* yang terekstrak dalam pelarut aseton yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antara lain senyawa yang terekstrak merupakan golongan dari senyawa *benzene*, aromatik hidrokarbon, dan *cycloalkena*. Senyawa dari golongan *benzene* mempunyai efek antagonistik terhadap pertumbuhan mikroorganisme, baik terhadap pertumbuhan bakteri maupun jamur (Sikkema *et al.*, 1995). Menurut Riyanto *et al.* (2013), senyawa golongan alkohol memiliki toksisitas terhadap mikroorganisme. Menurut Helal *et al.* (2006), senyawa golongan hidrokarbon, alkohol, dan keton memiliki aktivitas penghambatan terhadap kapang, khamir, dan bakteri. Aktivitas antijamur yang dimiliki dapat menunda pertumbuhan konidia jamur.

2. Senyawa Aktif Ekstrak Antimikroba dari Mikroalga *T. chuii* dengan Pelarut Metanol

Hasil pengujian komponen senyawa bioaktif ekstrak mikroalga *T.chuii* dengan menggunakan metode GC-MS menunjukkan terdapat beberapa komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Tabel 3 menunjukkan beberapa jenis senyawa dari mikroalga *T.chuii* yang terekstrak dalam pelarut metanol yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Hasil dari identifikasi senyawa terhadap ekstrak mikroalga *T.chuii* dengan menggunakan pelarut metanol menghasilkan senyawa-senyawa yang sebagian besar berasal dari golongan asam lemak dan beberapa berasal dari golongan ester. Menurut Kyaw *et al.* (2011), senyawa ester dan asam lemak memberikan spektrum penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Target dari senyawa tersebut meliputi penghambatan enzim (Cowan, 1999; Haslam, 1996), gangguan pada ikatan protein, membentuk kompleks dengan dinding sel, dan kehilangan substrat (Cowan, 1999).

3. Senyawa Aktif Ekstrak Antimikroba dari Mikroalga *T. chuii* dengan Pelarut Kloroform

Hasil pengujian komponen senyawa bioaktif ekstrak mikroalga *T.chuii* dengan menggunakan metode GC-MS menunjukkan terdapat beberapa komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak. menunjukkan beberapa jenis senyawa dari mikroalga *T.chuii* yang terekstrak dalam pelarut

kloroform yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Pada ekstrak terdapat asam lemak jenuh dan tak jenuh yang memiliki atom karbon lebih dari sepuluh yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau kematian pada bakteri patogen yang diujikan (Hou, 2000). Beberapa jenis senyawa asam lemak yang memiliki aktivitas antimikroba antara lain *linoleic acid*, *n-hexadecanoic acid*, *9-hexadecenoic acid* (Agoramoorthy *et al.*, 2007). Senyawa *9-hexadecenoic acid* memberikan efek terhadap permeabilitas membran dan partisi ion pada lapisan membran sel dari mikroorganisme (Langner dan Hui, 2000).

Senyawa dari golongan *benzene* juga memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Suzuki *et al.* (1988) menyatakan bahwa senyawa Bis (2-ethylhexyl) *phthalate* dapat bereaksi dengan sisi hidrofobik pada membran sel yang menyebabkan terganggunya permeabilitas dari membran sel.

Aktivitas Antimikroba Ekstrak Mikroalga *T. chuii*

1. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Mikroalga *T.chuii* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Diameter hasil penghambatan dari senyawa antibakteri ekstrak mikroalga *T.chuii* terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dapat dilihat pada Gambar 1. Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* lebih besar jika dibandingkan dengan diameter zona hambat yang dihasilkan pada pertumbuhan bakteri *E.coli*. Hal tersebut dapat dilihat dari besarnya diameter zona penghambatan terbesar yang dihasilkan pada pertumbuhan *S.aureus* yang mencapai 16.43 mm. Penghambatan tersebut dihasilkan pada perlakuan dengan menggunakan pelarut kloroform pada 3 siklus ekstrak. Pada pertumbuhan bakteri *E.coli*, diameter zona hambat terbesar hanya mencapai 16.07 mm yang juga dihasilkan dari perlakuan menggunakan pelarut kloroform pada 3 siklus ekstraksi.

Struktur dinding sel bakteri Gram-positif relatif lebih sederhana. Struktur dinding sel bakteri Gram-negatif relatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan seperti ditunjukkan pada Gambar 2. (Barudin *et al.*, 2014;

Malanovic dan Lohner, 2016). Perbedaan struktur dinding sel menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas senyawa antibakteri (Brooks *et al.*, 2003). Bakteri Gram-positif memiliki struktur dinding sel lebih banyak peptidoglikan yang mencapai 90%, sedikit lipid dan mengandung polisakarida yang mampu larut dalam air yang berfungsi sebagai transport ion positif. Menurut Madigan *et al.* (2003), bakteri Gram-positif mempunyai sisi hidrofilik, yaitu karboksil, asam amino, dan hidroksil sehingga bakteri Gram-positif lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri.

2. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Mikroalga *T.chuii* terhadap Pertumbuhan Jamur *C. albicans* dan *A.flavus*

Diameter hasil penghambatan dari senyawa antijamur ekstrak mikroalga *T.chuii* terhadap pertumbuhan khamir *C.albicans* dan kapang *A.flavus* dapat dilihat pada. Hasil pengujian aktivitas antijamur dari ekstrak mikroalga *T.chuii* terhadap pertumbuhan khamir *C.albicans* menunjukkan adanya zona penghambatan dengan rerata diameter zona hambat berkisar antara 10.76–15.46 mm, sedangkan rerata diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap pertumbuhan kapang *A.flavus* berkisar antara 11.53–15.80 mm. Ekstrak dengan menggunakan pelarut kloroform pada 3 siklus ekstraksi menghasilkan diameter zona bening yang paling besar.

A.flavus memiliki resistensi yang lebih rendah terhadap senyawa antijamur jika dibandingkan dengan *C.albicans*. Hal ini dikarenakan *A.flavus* memiliki dinding sel yang relatif sederhana, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4. Keberadaan senyawa antijamur dapat mendegradasi pektinase dan enzim-enzim lain yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya (Sikkema *et al.*, 1995). Dinding sel *C.albicans* tersusun atas manan (15.2%) dan glukukan (47%), sehingga spesies ini memiliki dinding sel yang lebih kuat (Chaffin *et al.*, 1998).

3. Perbandingan Aktivitas Antimikroba Ekstrak *T. chuii* terhadap Pertumbuhan *S.aureus*, *E.coli*, *C.albicans* dan *A.flavus*

Perbandingan aktivitas antimikroba terhadap empat mikroorganisme uji dapat dilihat pada. Ekstrak kloroform menghasilkan diameter daya hambat yang lebih besar dikarenakan senyawa antimikroba yang

terekstrak lebih bervariasi berdasarkan hasil uji dengan metode GC-MS.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan pelarut aseton dengan tiga siklus ekstraksi merupakan perlakuan maksimal untuk menghasilkan rendemen ekstrak mikroalga *T. chuii* yang terbesar adalah 35.19%, dan ekstrak dengan pelarut kloroform dengan tiga siklus ekstraksi merupakan perlakuan terbaik dengan hasil diameter zona bening yang paling besar, yaitu 16.43 mm pada *S. aureus*, 16.07 mm pada *E. coli*, 15.46 mm pada *C. albicans*, serta 15.8 mm pada *A. flavus*. Hasil analisis dengan metode GC-MS menunjukkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak mikroalga *T. chuii* yang berpotensi sebagai senyawa antimikroba antara lain senyawa dari golongan asam lemak, ester, aromatik hidrokarbon, alkohol, ketone, cycloalkena, alkana, dan benzene.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoramoorthy, G, Chandrasekaran, M, Venkatesalu, V, Hsu, M, J. 2007. Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye mangrove from India. *Braz. J. Microbiol.* 38(4):739-742
- Agustini, N, W, S. 2010. *Tetraselmis chuii*, mikroalga hijau berpotensi sebagai penghasil senyawa penghambat bakteri patogen. *Prosiding Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan II*, Jakarta, pp. 63-70
- Athukorala, Y, Lee, K, W, Kim, S, K, Jeon, Y, J. 2007. Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresour. Technol.* 98(9):1711-1716
- Barba, F, J. 2016. Microalgae and seaweeds for food applications: challenges and perspectives. *Food Research International.* 90:1-2
- Barudin, N, H, A, Sreekantan, S, Ong, M, T, Lai, C, W. 2014. Synthesis, characterization and comparative study of nano-Ag-TiO₂ against Gram-positive and

- Gram-negative bacteria under fluorescent light. *Food Control*. 46:480-487
- Brooks, GF, Butel, JS, Morse, SA. 2003. *Mikrobiologi Kedokteran Ed.23*. EGC, Jakarta
- Chaffin, W, L, Lopez-Ribot, J, L, Casanova, M, Gozalbo, D, Martinez, J, P. 1998. Cell wall and secreted proteins of *candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62(1):130-180
- Cowan, M, M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(4):564-582
- Haslam, E. 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *J. Nat. Prod.* 59(2):205-215
- Helal, G, A, Sarhan, M, M, Abu Shahla, A, N, K, Abou El-Khair, E, K. 2006. Antimicrobial activity of some essential oils against microorganisms deteriorating fruit juices. *Mycobiology*. 34(4):219-229
- Herrero, M, Sanchez-Camargo, A, P, Cifuentes, A, Ibanez, E. 2015. Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 71:26-38
- Hou, C, T. 2000. Biotransformation of unsaturated fatty acids to industrial products. *Advances in Applied Microbiology*. 47:201-220
- Jagessar, R, C, Mars, A, Gomes, G. 2008. Selective antimicrobial properties of *Phyllanthus acidus* leaf extract against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using stokes disc diffusion, well diffusion, streak plate and a dilution method. *Nature and Science*. 2(6):24-38
- Kuldiloke, J. 2002. Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. Disertasi Doktor. Universität Berlin. Jerman
- Kyaw, B, M, Arora, S, Win, K, N, Daine, L, C, S. 2011. Prevention of emergence of fusidic acid and rifampicin resistance in *Staphylococcus aureus* using phytochemicals. *African Journal of Microbiology*. 5(22):3684-3692
- Langner, M, Hui, S. 2000. Effect of free fatty acids on the permeability of 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine bilayer at the main phase transition. *Biochim. Biophys. Acta*. 1463(2):439-447
- Lenny, S, Zuhra, C, F. 2005. Isolasi dan bioaktivitas kandungan kimia utama pudding merah (*Graptophyllum pictum* L. Griff) dengan metode uji brine shrimp. *Jurnal Komunikasi Penelitian*. 17(5):56-59
- Madigan, MT, Martinko, JM, Parker, J. 2003. *Biology of Microorganisms 10th Ed*. Prentice-Hall Inc, New Jersey
- Makridis, P, Costa, R, A, Dinis, M, T. 2006. Microbial conditions and antimicrobial activity in cultures of two microalgae species, *Tetraselmis chuii* and *Chlorella minutissima* and effect on bacterial load of enriched *Artemia* metanauplii. *Aquaculture*. 255(1-4):76-81
- Malanovic, N, Lohner, K. 2016. Gram-positive bacterial cell envelopes: The impact on the activity of antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 1858:936-946
- Maligan, J, M, Widayanti, V, T, E. Zubaidah, E. 2015. Identifikasi senyawa mikroalga laut *Tetraselmis chuii* (Kajian metode ekstraksi maserasi, jenis pelarut dan waktu ekstraksi). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 16(3):195-206
- Mason, TJ, Lorimer, JP. 2002. *Applied Sonochemistry: The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*. Wiley, USA
- Park, P, W, Goins, R, E. 1994. In situ preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in Foods. *Journal of Food Science*. 59(6):1262-1266
- Philip, K, Abd Malek, S, N, Sani, W, Shin, S, K, Kumar, S, Lai, H, S, Serm, L, G, Rahman, S, N, S, A. 2009. Antimicrobial activity of some medicinal plants from malaysia. *American Journal of Applied Sciences*. 6(8):1613-1617
- Prakash, J, W, Marimuthu, J, Antonisamy, Jeeva, S. 2011. Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from thamirabarani river, tamil nadu, south india. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. 1(2 Supplement):S170-S173
- Pulz, O, Gross, W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65(6):635-648
- Riyanto, E, I, Widowati, I, Sabdono, A. 2013. Skrining aktivitas antibakteri pada ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan *Micrococcus*

- luteus* di pulau panjang jepara. *Journal of Marine Research*. 2(3):115-121
- Sikkema, J, de Bont, J, A, Poolman, B. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol. Rev.* 59(2):201-222
- Singh, J, Saxena, RC. 2015. 'An Introduction to Microalgae: Diversity and Significance'. Dalam SK Kim (ed.). *Handbook of Marine Microalgae*. Academic Press, Elsevier, UK
- Suzuki, K, Nakano, N, Tanaka, R, Uyeda, M, Shibata, M. 1988. Cell Aggregation Factor Produced by *Streptomyces* sp. Strain No. A-3315. *Agricultural and Biological Chemistry*. 52(10):2589-2595
- Zheng, L, Bae, Y, M, Jung, K, S, Heu, S, Lee, S, Y. 2013. Antimicrobial activity of natural antimicrobial substances against spoilage bacteria isolated from fresh produce. *Food Control*. 32(2):665-672