

Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*

Antibacterial activity assay from *Porphyridium cruentum* microalgae

KUSMIYATI*, NI WAYAN SRI AGUSTINI

Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong 16911

Diterima: 5 Oktober 2006. Disetujui: 29 Desember 2006.

ABSTRACT

The objective of this research was to know the antibacterial activity from the *Porphyridium cruentum*. *P. cruentum* is the Rhodophyceae algae. The extraction of microalgae biomass used dichloromethane solution and resulted three types extracts. Antibacterial activity of the extracts using the clear zone method to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Identification of antibacterial substance of the extracts were using Gas Chromatograph Mass Spectrophotometer (GCMS). The results showed that C type extract have antibacterial activity to all of indicator bacteria, neither do A type extract. Whereas the B type extract inhibited to *B. subtilis* and *S. aureus* growth. Analysis of the antibacterial compound by GC-MS was fatty acid. The major component of antibacterial from the *P. cruentum* was metil hexadecanoate acid (palmitic acid), the percent area was 41,15 % of B type extract and 60,36 % of C type extract.

© 2007 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words : *Porphyridium cruentum*, dichlorometane extract, antibacterial activity, GCMS

PENDAHULUAN

Porphyridium cruentum adalah mikroalga merah bersel satu yang termasuk kelas *Rhodophyceae*, hidup bebas atau berkoloni yang terikat dalam mucilago. Senyawa mucilago dieksresikan secara konstan oleh sel membentuk sebuah kapsul yang mengelilingi sel. Mucilago merupakan polisakarida sulfat yang bersifat larut dalam air (Borowitzka & Borowitzka, 1988). Sel *P. Cruentum* berbentuk bulat dengan diameter 4 - 9 μ m. Struktur selnya terdiri dari sebuah nukleus (inti), kloroplas, badan golgi, mitokondria, lendir, pati dan vesikel. Setiap sel memiliki kloroplas dengan pirenoid di tengahnya (Lee, 1989). *Porphyridium* dapat hidup di berbagai habitat alam seperti air laut, air tawar, maupun pada permukaan tanah yang lembab dan membentuk lapisan kemerah-merahan yang sangat menarik. Habitat asli dari *P. cruentum* diduga berasal dari laut karena dapat hidup dengan baik pada media cair maupun media padat air laut (Borowitzka & Borowitzka, 1988). Biomasa kering sel *P. cruentum* mengandung protein 28-40%, karbohidrat 22-57%, lipid 6-14%, *phycoerythrin* 8%, asam arachidonat 2%, *phycocyanin* 0,2-0,3% dan klorofil 0,1-0,3% (Anonim, 2004). Sel *P. Cruentum* dapat menghasilkan metabolit-metabolit yang aktif secara biologi seperti antibiotik. Kelompok senyawa kimia utama yang merupakan antibakteri adalah fenol dan senyawa fenolat, alkohol, halogen, logam berat, detergen, aldehyd, dan gas kemosterilisator (Borowitzka & Borowitzka, 1988).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteristatik, bakterisidal, dan bakterilitik (Pelczar & Chan 1986).

Proses ekstraksi senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueus phase* dan *organic phase*. Ekstraksi *aqueus phase* dilakukan dengan pelarut air, sedangkan ekstraksi *organic phase* menggunakan pelarut organik. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1978).

Pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (Pharmacopeial, 1993). Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan, metode difusi dapat dilakukan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder. Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat

▼ Alamat Korespondensi:

Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911
Telp.: +62-21-8754587 Fax. +62-21-8754588
Email : kusmiati02@yahoo.com

yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

Metode pengenceran yaitu mengencerkan zat antimikroba dan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi steril. Ke dalam masing-masing tabung itu ditambahkan sejumlah mikroba uji yang telah diketahui jumlahnya. Pada interval waktu tertentu, dilakukan pemindahan dari tabung reaksi ke dalam tabung-tabung berisi media steril yang lalu diinkubasikan dan diamati penghambatan pertumbuhan.

Tujuan percobaan ini untuk menguji ekstrak mikroalga *P. cruentum* terhadap beberapa bakteri patogen indikator (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan mengidentifikasi senyawa antibakteri dalam ekstrak tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga *Porphyridium cruentum*, tiga bakteri indikator yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Semua mikroba tersebut merupakan koleksi Puslit Bioteknologi-LIPI, Cibinong.

Media Pertumbuhan

Porphyridium cruentum dikultur dalam media Becker (1994) yang terdiri dari: natrium klorida (27 g/L), magnesium sulfat heptahidrat (6,6 g/L), magnesium klorida heksahidrat (5,6 g/L), kalsium klorida dihidrat (1,5 g/L), kalium nitrat (1 g/L), kalium dihidrogen fosfat (0,07 g/L), natrium bikarbonat (0,04 g/L), tris hidroklorida (20 mL/L), campuran larutan besi (III) klorida dan etilen diamin tetraasetat (EDTA) dan mikroelemen (1 mL/L). Media diatur pada pH 7,6 dan disterilkan dengan autoklaf pada 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit.

Pengukuran kepadatan biomassa *P. cruentum*

Pengukuran biomassa berdasarkan kurva pertumbuhan *P. cruentum* dengan menggunakan metode turbidimetri. Kultur *P. cruentum* diukur serapan cahaya pada panjang gelombang 680 nm dengan spektrofotometer (Spectronic 21 D). Kurva pertumbuhan merupakan hubungan antara waktu inkubasi dan kepadatan biomassa.

Kultivasi mikroalga *P. cruentum*

P. cruentum dikultivasi dalam botol berisi 500 ml media Becker. Setelah stok kultur mencapai *optical density* (OD) 1,6, sebanyak 250 ml kultur tersebut dipindahkan ke botol 2 L diencerkan dengan 750 ml media yang sama sehingga OD sekitar 0,4.

Ekstraksi senyawa antibakteri

Pemanenan kultur *P. cruentum* dilakukan pada fase stasioner awal. Kultur dipisahkan dari media dengan sentrifus berkecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Endapan yang dihasilkan, dikeringkan dalam oven vakum

pada suhu 38°C. Endapan kering ditimbang selanjutnya diekstraksi menggunakan metode Naviner *et al* (1999).

Sejumlah 5 g biomassa mikroalga disuspensikan dalam 30 ml etanol 96%, kemudian diaduk selama 30 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Pekerjaan tersebut diulangi 4 kali. Filtrat hasil sentrifugasi dikumpulkan dan diuapkan menggunakan vakum rotavapor pada suhu 37°C. Residu ditambah 10 ml akuades dan 10 ml diklorometan. Lapisan akuades ditambah 10 ml diklorometan dan dikocok. Pekerjaan ini dilakukan tiga kali. Lapisan diklorometan dikumpulkan, kemudian dikeringkan dengan oven vakum pada suhu 38°C (ekstrak A). Ekstrak A dilarutkan dalam 53 ml diklorometan dan 21 ml NaOH 0,5 N kemudian dikocok. Lapisan diklorometan ditambah 21 ml NaOH 0,5N kemudian dikocok. Pekerjaan ini dilakukan lima kali. Lapisan NaOH dinetralkan dengan HCl 8N. Lapisan NaOH dilarutkan 20 ml diklorometan dan dikocok. Pekerjaan ini dilakukan enam kali. Lapisan diklorometan dikumpulkan, kemudian dikeringkan dengan oven vakum pada suhu 38°C (ekstrak B). Ekstrak B dilarutkan dalam 82 ml metanol-air (90:10), kemudian dicampur dengan 31 ml *n*-heksana. Lapisan heksana dibuang dan lapisan metanol-air ditambah akuades sampai diperoleh perbandingan 70:30 metanol:air. Selanjutnya ekstraksi dengan 31 ml diklorometan dilakukan sebanyak enam kali. Lapisan diklorometan dikumpulkan, kemudian dikeringkan dengan oven vakum pada suhu 38°C (ekstrak C).

Persiapan Bakteri Uji

Peremajaan bakteri indikator. Media yang digunakan adalah NA (*Nutrient Agar*) dengan komposisi: Ekstrak daging 1%, pepton 1%, dan Agar 1,5%. Media dilarutkan dalam akuades dan dipanaskan hingga larut sempurna, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 mL dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah steril, tabung dimiringkan dan didiamkan hingga memadat.

Sejumlah 1 ose stok bakteri *E. coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus* masing-masing diinokulasi ke dalam media regenerasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Kultur bakteri indikator. Bakteri (*E. coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus*) yang segar diinokulasikan sebanyak 1 ose ke dalam media NB, diinkubasi semalam pada suhu 37°C. Selanjutnya masing-masing bakteri uji diinokulasi sebanyak 2% ke dalam 10 mL media cair, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dengan kecepatan putaran 150 rpm selama 18-24 jam sampai kekeruhannya mencapai 25% T. Kultur bakteri diukur kekeruhannya secara turbidimetri dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 580 nm.

Pengujian aktivitas senyawa antibakteri *P. Cruentum* terhadap bakteri indikator (*E. coli*, *B. subtilis* dan *S. Aureus*) (Holo *et al*, 1991). Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode lubang. Sampel antibakteri merupakan senyawa aktif hasil proses ekstraksi bertingkat (A,B,C) dari kultur mikroalga *P. cruentum*. Proses pengujian menggunakan metode berlubang sebagai berikut: Bakteri (*E. coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus*) yang telah diinokulasi ke dalam media pertumbuhan (NB), masing-masing dimasukkan ke dalam media NA lunak (0,7%) steril. Selanjutnya media agar lunak mengandung bakteri uji dituangi di atas media padat steril dalam cawan petri yang telah memadat. Media menjadi dua lapisan dan didiamkan pada suhu kamar sehingga memadat. Pada lapisan atas dibuat 4 lubang dengan diameter 4 mm. Ke dalam lubang

tersebut dimasukkan ekstrak mikroalga *P. cruentum* dengan konsentrasi 10.000, 8.000, 7.500 dan 6.000 bpj. Perlakuan kontrol positif yaitu menggunakan antibiotika kloramfenikol untuk bakteri *E. coli*, Streptomisin untuk bakteri *B. Subtilis* dan tetrasiklin untuk bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 1.000, 500, 250 dan 125 bpj. Kontrol negatif menggunakan diklorometan. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilakukan pengukuran zona hambatan yang terbentuk di sekeliling lubang dengan menggunakan jangka sorong (mm).

Identifikasi senyawa antibakteri dengan kromatografi Gas Spektrofotometer Massa (Rood, 1995, Skoog, 1985, Grant, 1996).

Pembentukan senyawa metil ester. Ekstrak senyawa antibakteri dari mikroalga *P. cruentum* ditambahkan larutan Boron tri flourida-Metanol 7% ke dalam labu didih yang diberi beberapa butir batu didih. Kemudian direfluks selama 20 menit dengan suhu 700C, ditambahkan 5 ml n-heksan melalui kondensor, direfluks kembali selama satu menit kemudian didinginkan. Ambil fase heksan pada lapisan atas dan ditambahkan natrium sulfat anhidrat, disaring dengan mikrofilter dan dimasukkan ke dalam botol dan diuapkan hingga kering untuk diidentifikasi pada KGSM.

Identifikasi senyawa antibakteri dengan Kromatografi Gas Spektrofotometer Massa. Sampel yang diperoleh dilarutkan dalam n-heksan, kemudian diidentifikasi dengan KGSM untuk mengetahui jenis senyawa dalam sampel dan bobot molekul. Alat yang digunakan yaitu

Agilent Technologies 6890 Gas Chromatograph with Auto Sampler and 5973 Mass Selective Detector and Chemstation data system dengan Kolom INNOWAX. Kondisi alat meliputi volume injeksi 5 µL, suhu injektor 250°C, gas pembawa Helium, energi 70 eV, mode aliran gas konstan, split 25:1, suhu Detektor 230°C dan suhu kolom 85°C selama 3 menit, dinaikkan setiap menit 5°C hingga mencapai suhu 200°C dan stabil pada 200°C selama 25 menit

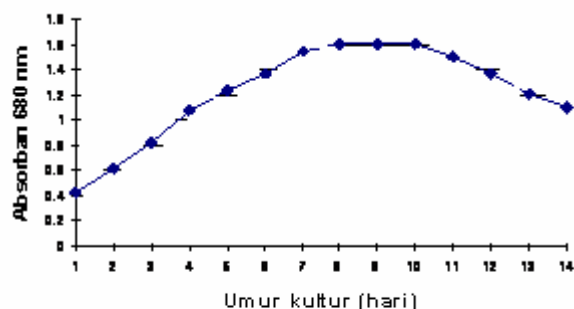
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur Porphyridium cruentum dan Kepadatan Biomasa

Pola pertumbuhan mikroalga dapat dilakukan berdasarkan kepadatan biomasa dengan metode turbidimetri, gravimetri dan penghitungan langsung sel-selnya di bawah mikroskop menggunakan haemositometer. Untuk mikroalga *P. cruentum* cara terakhir sulit dilakukan karena meskipun *P. cruentum* merupakan mikroalga uniseluler namun kadang-kadang terikat oleh suatu lendir (*mucilago*) sehingga menyebabkan tidak merata dan sulit dihitung (Kabinawa, 2001).

Mikroalga *P. cruentum* memerlukan nutrisi yang mengandung mineral dan kondisi lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhannya yang optimum (Borowitzka & Borowitzka, 1988). Pada penelitian ini pengamatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan metode turbidimetri. Kurva pertumbuhan *P. cruentum* dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa fase logaritmik terjadi pada hari ke-1 hingga ke-7 sedangkan fase stasioner awal terjadi pada hari ke-8. Kultur tidak mengalami fase lag karena pemindahan kultur ke media



Gambar 1. Kurva pertumbuhan mikroalga *Porphyridium cruentum*

Tabel 1. Bobot senyawa aktif hasil ekstraksi bertingkat kultur *Porphyridium cruentum*

Ekstrak	Warna	Bobot(mg)
A	Hijau kecoklatan	367,7 ± 21,2
B	Coklat muda	268,1 ± 13,4
C	Coklat muda	39,0 ± 2,2

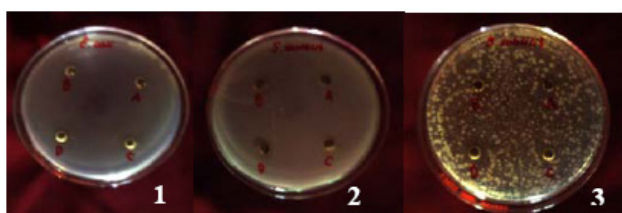
^{a)} merupakan 4 kali ulangan

pengamatan berasal dari stok yang sudah mencapai fase logaritma, sehingga kultur cepat melanjutkan perbanyakkan sel tanpa adaptasi terlalu lama. Pada fase logaritma senyawa antibakteri pada mikroalga telah terbentuk sedangkan pada fase stasioner pembentukan senyawa antibakteri telah maksimal sehingga pemanenan biomassa *P. cruentum* dilakukan pada fase stasioner awal (Stewart, 1974).

Ekstraksi Senyawa Antibakteri dari Mikroalga Porphyridium cruentum

Proses ekstraksi merupakan isolasi senyawa yang terdapat dalam campuran larutan atau campuran padat dengan menggunakan pelarut yang cocok (Harborne, 1978). Pemanenan kultur *P. cruentum* untuk ekstraksi senyawa antibakteri dilakukan pada fase stasioner awal yang dicapai saat kultur berumur 8 hari. Supernatan kultur dan endapan *P. cruentum* dipisahkan dengan menggunakan sentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Teknik pemisahan antara endapan sel dengan supernatan dari kultur mikroalga dengan metode sentrifugasi merupakan cara yang sangat efisien (Borowitzka & Borowitzka, 1988).

Biomasa *P. cruentum* yang telah dikeringkan, diekstraksi dengan metode Naviner *et al* (1999). Prinsip metode ini adalah mengisolasi komponen senyawa antibakteri dalam biomassa mikroalga *P. cruentum*. Ekstraksi dilakukan beberapa kali dengan pelarut diklorometan dalam berbagai kondisi. Hasil ekstrak kultur *P. cruentum* yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, bobot ekstrak yang diperoleh semakin menurun dari ekstrak A, B, hingga C. Hal ini disebabkan karena pada ekstrak A merupakan biomassa sel yang sebagian besar yang terdiri dari senyawa pembentuk komponen sel mikroalga seperti polisakarida dan klorofil. Selanjutnya ekstraksi dilakukan untuk memisahkan senyawa antibakteri dari polisakarida dan klorofil tersebut, sehingga bobot ekstrak yang diperoleh semakin menurun tetapi aktivitas senyawa bakteri semakin besar.



Gambar 2. Uji aktivitas ekstrak A *P. cruentum* terhadap bakteri uji 1: *E. coli*; 2: *S. aureus*; 3: *B. subtilis*; dengan konsentrasi (bpj) A: 10.000; B: 8.000; C: 7.500; D: 6.000



Gambar 3. Uji aktivitas ekstrak B *P. cruentum* terhadap bakteri uji 1: *E. coli*; 2: *S. aureus*; 3: *B. subtilis*; dengan konsentrasi (bpj) A: 10.000; B: 8.000; C: 7.500; D: 6.000



Gambar 4. Uji aktivitas antibakteri ekstrak C *P. cruentum* terhadap bakteri uji 1: *E. coli*; 2: *S. aureus*; 3: *B. subtilis*; dengan konsentrasi (bpj) A: 10.000; B: 8.000; C: 7.500; D: 6.000

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak B *P. cruentum* terhadap bakteri uji

Bakteri Uji	Zona hambat (mm)			
	10.000 (bpj)	8000 (bpj)	7500 (bpj)	6000 (bpj)
<i>E. coli</i>	-	-	-	-
<i>B. Subtilis</i>	11,10	9,95	8,10	7,00
	10,80	9,05	8,10	6,90
<i>S. aureus</i>	10,00	9,10	8,00	6,52
	10,10	9,40	7,50	6,70
	9,80	9,00	8,30	6,70

Keterangan : (-) tidak ada hambatan

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak C *P. cruentum* terhadap bakteri uji

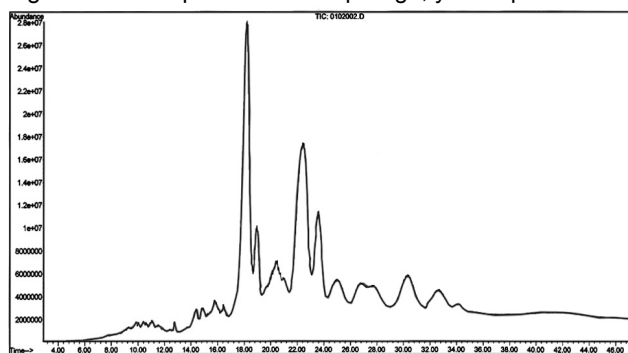
Bakteri Uji	Zona hambat (mm)			
	10.000 (bpj)	8000 (bpj)	7500 (bpj)	6000 (bpj)
<i>E. coli</i>	9,00	8,54	8,10	7,10
	9,10	8,40	8,05	7,20
	9,00	8,70	8,00	7,10
<i>B. Subtilis</i>	12,70	11,52	11,00	10,05
	12,50	11,40	11,05	11,45
	12,65	11,45	11,00	10,00
<i>S. aureus</i>	12,00	11,10	11,00	10,20
	12,10	11,15	10,95	10,05
	12,25	11,15	11,05	10,10

Pengujian Aktivitas Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*.

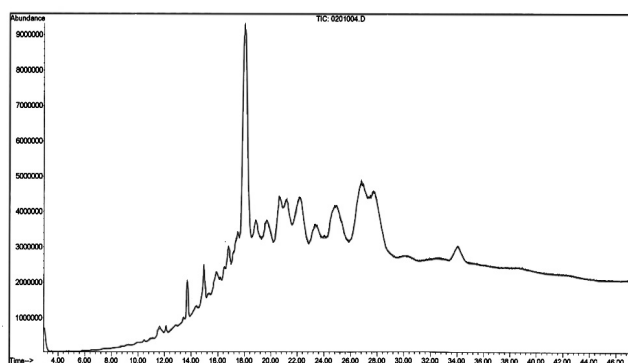
Uji aktivitas senyawa antibakteri menggunakan metode difusi yaitu metode lubang, dengan dua lapisan agar, dimana lapisan atas dibuat lubang dan diisi dengan ekstrak senyawa antibakteri dari mikroalga *P. cruentum*. Ekstrak senyawa antibakteri pada lapisan atas akan berdifusi ke lapisan bawah.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa uji aktivitas ekstrak A tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (*E. coli*) dan bakteri gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*), seperti terlihat pada Gambar 2. Hal ini dikarenakan etanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan hampir sebagian besar komponen senyawa yang terdapat dalam biomassa mikroalga *P. cruentum* sehingga konsentrasi senyawa antibakteri terlalu kecil. Akibatnya aktivitas terhadap bakteri gram negatif (*E. coli*) dan bakteri gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*) tidak terlihat.

Uji aktivitas ekstrak B dari kultur *P. cruentum* tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*E. coli*), tetapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*), seperti terlihat pada Gambar 3. Respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap senyawa ini disebabkan karena adanya perbedaan kepekaan pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak B. Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar



Gambar 5. Kromatogram ekstrak B menggunakan KGSM



Gambar 6. Kromatogram ekstrak C menggunakan KGSM

Tabel 5. Identifikasi ekstrak *C. P. cruentum* dengan KGSM

Nomor puncak	Waktu retensi	BM	Rumus molekul	Senyawa	% area	Kemiripan/kualitas (%)
1	13,70	158	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	Metil 9-oksononanoat	3,51	90
2	14,95	242	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Metil tetradekanoat (asam miristat)	4,63	68
3	17,49	282	C ₂₀ H ₄₂	Eikosana	14,68	81
4	17,99	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Metil heksadekanoat (asam palmitat)	60,36	99
5	20,68	338	C ₂₄ H ₅₀	Tetrakosana	8,03	78
6	22,01	294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	Metil 9,12-oktadekadienoat (asam linoleat)	8,49	99
7	34,01	348	C ₂₁ H ₃₂ O ₄	14-Beta-H-Pregna	0,30	99

berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida. (Pelczar & Chan, 1986)

Nilai diameter zona hambat hasil uji aktivitas ekstrak B terhadap bakteri *B. subtilis* dan *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 2. Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 10.000 bpj lebih besar dibandingkan dengan 8.000, 7.000 dan 6.000 bpj. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, semakin besar daya hambat yang dihasilkan karena pada konsentrasi yang besar, semakin tinggi aktivitas senyawa antibakteri.

Hasil uji aktivitas ekstrak *C. P. cruentum* menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan pada bakteri Gram negatif (*E. coli*) dan bakteri Gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*), seperti terlihat pada Gambar 4. Berdasarkan Tabel 3, ekstrak C memberikan zona hambat

yang lebih besar dibanding ekstrak B. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi persen komposisi senyawa antibakteri di dalam ekstrak C, sehingga semakin besar aktivitas antibakteri ekstrak C dibanding ekstrak A dan B. Pada ekstrak *C. P. cruentum* terdapat asam lemak jenuh dan tak jenuh yang memiliki atom karbon lebih dari sepuluh yang dapat menyebabkan protoplas bakteri mengalami lisis dengan cara mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau kematian pada bakteri patogen yang diujikan. (Naviner *et al*, 1999) Diameter zona hambat hasil uji aktivitas ekstrak C terhadap bakteri *E. coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa aktivitas senyawa antibakteri dari ekstrak C lebih besar dibanding ekstrak A dan B.

Sebagai pembanding digunakan kontrol negatif yang hanya berisi pelarutnya saja dan kontrol positif antibiotik kloramfenikol untuk *E. coli*, tetrasiklin untuk *S. aureus* dan streptomisin untuk *B. subtilis*. (Watanabe, 1990) Digunakan tiga antibiotik pembanding karena masing-masing bakteri mempunyai sensitivitas yang berbeda terhadap antibiotik tertentu. Kontrol positif digunakan untuk membandingkan apakah *P. cruentum* yang digunakan sebagai larutan uji mempunyai efek antibakteri sebanding atau lebih kecil dari zona hambat antibiotik kloramfenikol, tetrasiklin dan streptomisin terhadap bakteri uji.

Identifikasi Senyawa Antibakteri *P. cruentum* dengan Kromatografi Gas Spektrometri Massa.

Ekstrak *A. P. cruentum* tidak diidentifikasi lebih lanjut dengan Kromatografi Gas Spektrometri Massa karena pada pengujian aktivitas antibakteri tidak menimbulkan zona hambatan terhadap bakteri indikator yang diujikan. Hasil identifikasi ekstrak B *P. cruentum* dengan Kromatografi Gas Spektrometri Massa

menunjukkan bahwa terdapat 8 senyawa yaitu: Metil tetradekanoat (asam miristat), Metil pentadekanoat, Metil heksadekanoat (asam palmitat), Metil 7,10,13-heksadekatrienoat, Metil 5,8,11,14-eikosatetraenoat (asam arakidonat), Metil 9,12-oktadekadienoat (asam linoleat), Metil 9,12,15-oktadekatrienoat (asam linolenat) dan 14-Beta-H-Pregna. Komponen terbesar dalam ekstrak B *P. cruentum* adalah Metil heksadekanoat (asam palmitat) sebanyak 41,15%. Senyawa asam lemak yang terdeteksi berupa metil ester asam lemak karena pada saat identifikasi dengan KGSM hasil ekstrak diubah menjadi bentuk metil ester asam lemak. Hasil kromatogram ekstrak B dapat dilihat pada Gambar 5 sedangkan rumus molekul dan bobot molekulnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Sedangkan hasil analisis ekstrak *C. P. cruentum* dengan KGSM menunjukkan bahwa terdapat 7 senyawa yaitu: Metil 9-okso-nonanoat, Metil tetradekanoat (asam miristat), Eikosana, Metil heksadekanoat (asam palmitat), Tetrakosana, Metil 9,12-oktadekadienoat (asam linoleat) dan 14-Beta-H-Pregna. Komponen terbesar ekstrak *C. P. cruentum* adalah Metil heksadekanoat (asam palmitat) sebanyak 60,36%. Hasil kromatogram ekstrak C dapat dilihat pada Gambar 6, sedangkan rumus molekul dan bobot molekulnya dapat dilihat pada Tabel 5.

KESIMPULAN

Mikroalga *Porphyridium cruentum* dapat menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hasil ekstraksi senyawa antibakteri dari kultur mikroalga *P. cruentum* menunjukkan bahwa pada ekstrak A tidak dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri (*E. coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus*) yang diuji, ekstrak B dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *S. aureus* tetapi tidak menghambat pertumbuhan *E. coli*. Sedangkan pada ekstrak C dapat menghambat pertumbuhan ketiga bakteri indikator yang diuji.

Hasil identifikasi senyawa antibakteri dari *P. cruentum* dengan Kromatografi Gas Spektrometri Massa menunjukkan senyawa dominan yaitu asam lemak Metil heksadekanoat (asam palmitat) sebanyak 41,15% pada ekstrak B dan sebanyak 60,36% pada ekstrak C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. I. Nyoman Kabinawa Laboratorium Akuakultur, Puslit Bioteknologi-LIPI atas bantuan dan fasilitas dalam penelitian ini. Kepada Sdri Emma Rahmawati yang telah membantu selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2004. *Porphyridium cruentum* composition. www.necton.pt/Algae, 11 mei 2004
- Becker FW. 1994. *Microalgae biotechnology and microbiology*. New York: Cambridge University Press.
- British Pharmacopeia commission. 1993. *British pharmacopeia*. Vol. II. London: Her Majesty's stationery office, hal. 167-8.
- Borowitzka MA, Borowitzka L.J. 1988. *Mikroalgal biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Grant DW. 1996. *Capillary gas chromatography*. Chichester: John Willey and Sons Ltd.;
- Harborne JB. *Metode Fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Ed II. Diterjemahkan oleh Padmawinata K, Sudiro I. Bandung: Institut Teknologi Bandung; 1978. hal. 3-15.
- Holo H, Nilssen, Nes IF. 1991. Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis* Subsp. cremoris: isolation and characterization of the protein and its gene. *Journal of Bacteriology*, hal. 3879-87.
- Kabinawa INK. 2001. *Mikroalga sebagai sumber daya hayati (SDH) perairan dalam perspektif bioteknologi*. Bogor: Puslitbang Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Lee, E.R. 1989. *Phycology. Second edition*, Cambridge: Cambridge University Press.
- Naviner M, Bergee JP, Durand P, Le Bris H. 1999. Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens. *Journal aquacultur*; 174: 15-24.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1986 *Dasar-dasar mikrobiologi 2*. Diterjemahkan oleh Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; hal. 489-522.
- Skoog DA. 1985. *Principles of instrumental analysis. 3rd ed*. New York: Sounders College Publ.
- Stewart WDP. 1974. *Algal physiology and biochemistry*. Blackwell scientific publications.
- Rood D. A practical guide to the care, maintenance and troubleshooting of capillary gas chromatographic systems. Second enlarged and revised edition Heidelberg: Huthig; 1995. 4-8
- Watanabe T. 1990. *Fish nutrition and mariculture*. Tokyo: Departement of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries.