

Aktivitas Antibakteri dari Mikroalga Laut *Porphyridium cruentum* terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne*

Vina Juliana Anggraeni^{1*}, Fajar Arip Nugraha², Aris Suhardiman²

¹Fakultas Farmasi, Bhakti Kencana University, vina.juliana@stfb.ac.id

²Fakultas Farmasi, Bhakti Kencana University

INFO ARTIKEL

Riwayat Artikel:

Diterima: 24-05-2019
Disetujui: 27-08-2019

Kata Kunci:

Mikroalga
Porphyridium cruentum
Antibakteri
Staphylococcus epidermidis
Propionibacterium acne

ABSTRAK

Abstrak: Penelitian ini bertujuan melakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne*. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram kertas dan identifikasi golongan senyawa menggunakan metode bioautografi. Hasil yang diperoleh ekstrak terbaik n-heksana terhadap bakteri *P. acne* mulai dari konsentrasi 2% menunjukkan diameter zona bening $7,4 \pm 0,9$ mm. Bakteri *S. epidermidis* pada konsentrasi 2% sebesar $6,5 \pm 0,3$ mm. Hasil identifikasi golongan senyawa pada ekstrak n-heksana terdapat senyawa asam lemak yang dominan yaitu asam palmitat 18,23% asam arakidonat 14,82% dan asam eikosapentanoat 12,49%.

Abstract: This study aimed to perform the antibacterial activity assay towards *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*. The assay was using paper disc method and bioautography to identify the group of the active compounds. The result of the antibacterial assay showed that n-hexane extract given the best activity against *P. acne* with concentration of 2% showed clear zones of $7,4 \pm 0,9$ mm in a row. *S. epidermidis* in concentration of 2% showed clear zone of 6.5 ± 0.3 mm. The identification result of the n-hexane extract contains dominant fatty acids such as 18.23% palmitic acid, 14.82% arachidonic acid and 12.49% eicosapentanoate acid.

A. LATAR BELAKANG

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. 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%. 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, aldehyd¹.

Antibakteri diperlukan untuk mengatasi bakteri patogen dapat merugikan kesehatan manusia. Antibakteri adalah senyawa kimia yang memiliki fungsi menghambat pertumbuhan maupun membunuh sel bakteri². Sintesis sejumlah besar antibakteri selama tiga

dekade terakhir telah menyebabkan rasa puas diri terhadap ancaman resistensi bakteri. Bakteri telah menjadi resisten terhadap agen antimikroba akibat perubahan kromosom atau pertukaran materi genetik melalui plasmid dan transposon³. Hal ini memicu perlunya pencarian alternatif bahan alami sebagai antibakteri yang aman bagi kesehatan manusia, dan salah satu sumber penghasil antibakteri alami adalah mikroalga.

Hasil dari penelitian Kusmiyati pada tahun 2007 menunjukkan bahwa ekstrak mikroalga *P. cruentum* dapat menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus*). Identifikasi senyawa antibakteri dari *P. cruentum* dengan kromatografi gas spektrometri massa menunjukkan senyawa dominan yaitu asam lemak metil heksadekanat sebanyak 41,15 – 60,36%⁴.

Pada penelitian sebelumnya telah ada yang menguji ekstrak mikroalga *P. cruentum* terhadap beberapa bakteri patogen indikator. Sedangkan pada penelitian

ini dilakukan uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne*.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri dari mikroalga laut *P. cruentum* yang dilakukan dalam beberapa tahapan penelitian meliputi penyiapan bahan, aktivasi pertumbuhan, pemanenan, ekstraksi, penapisan fitokimia, pengujian aktivitas antibakteri, dan identifikasi golongan senyawa aktif. Adapun prosedur penelitiannya sebagai berikut:

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan peralatan standar, yaitu peralatan gelas dan non gelas, serta peralatan khusus lainnya. Peralatan gelas yang digunakan meliputi gelas ukur, gelas kimia, cawan petri, botol kaca berkapasitas 1 L, pipa kaca berbentuk L panjang (untuk aerasi) dan pendek (untuk udara keluar botol dan pengambilan sampel). Sedangkan untuk peralatan lainnya yang digunakan adalah sumbat karet, kapas berlemak, kassa, aerator, selang plastik, pipet mikro Eppendorf ukuran 10-100 μL dan 100-1.000 μL , lampu neon, haemocytometer, mikroskop, timer, neraca analitik, spatel, oven, desikator, hot plate, rotary evaporator, autoklaf, oven, spektrofotometri Uv-Vis, plat KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm, dan well plate mikrodilusi.

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mikroalga *Porphyridium cruentum*, bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acne*, pelarut n-heksana, etil asetat, etanol, aquadest, media walne, MHB (*Mueller Hinton Broth*), NA (*Nutrient Agar*), garam korosok

Aktivasi Mikrolaga

Aktivasi dilakukan di Laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Sampel mikroalga laut *Porphyridium cruentum* diaktivasi selama empat (4) hari dengan volume total 900 mL. Sel inokulum pada 10 % (v/v) dari volume total kultur, ditambah media walne 900 μL , silikat 450 μL dan vitamin 100 μL . Salinitas medium air laut diatur pada konsentrasi 25 ppt, aerasi selama 24 jam, suhu ruang (25-27 °C), fotoperiode 12:12 (gelap:terang) dengan intensitas cahaya 10.000 lux. Kultivasi mikroalga dilakukan dengan teknik batch dengan kondisi yang sama dengan aktivasi di dalam medium Walne. Kepadatan sel inokulum kultur sebesar 500.000 sel/mL, diukur dengan menggunakan haemocytometer dan *Optical Density*.

Menghitung Kepadatan Sel

Metode Haemocytometer

Untuk mengamati setiap fase pertumbuhan dari mikroalga *Porphyridium cruentum*, dilakukan setiap

1x24 jam perhitungan kepadatan sel dengan menggunakan alat haemocytometer di bawah mikroskop. Adapun rumus perhitungannya adalah sbb:

$$N = \frac{(N1 + N2)}{2} \times \frac{1}{(0,2\text{mm} \times 0,1\text{mm})} \times \frac{1\text{mm}^3}{10^{-3}} \dots (1)$$

Ket:

N = kepadatan sel (sel/mL),

N1 = jumlah sel dalam kotak ke 1,

N2 = jumlah sel dalam kotak ke-2, 0,2mm: luas haemositometer, 0,1mm: kedalaman cairan⁵

Metode Optical Density

Kepadatan sel dapat dihitung dengan serapan absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 684nm dengan serapan absorbansi hari ke-0 sebesar 0.1 dan amati grafik kurva pertumbuhan dari hari ke-0 sampai hari ke-14.

Pertumbuhan

Pertumbuhan mulai dihitung dari kepadatan sel awal berjumlah 500.000 sel, kemudian diamati fase pertumbuhannya yaitu fase adaptasi, eksponensial, perlambatan pertumbuhan, stasioner dan kematian. Fase pertumbuhan dapat dilakukan dengan menghitung kepadatan sel.

Pemanenan Mikroalga

Pemanenan *P. cruentum* dilakukan dengan cara sentrifugasi, karena sel *P. cruentum* berukuran kecil (49 μM) pemanenan mikroalga *P. cruentum* dilakukan dengan menggunakan alat sentrifuga pada kecepatan 5000-6000 selama 20-30 menit. Supernatan kemudian dipisahkan dan endapan (biomassa basah) dikumpulkan dan ditimbang menggunakan neraca analitis. Kerapatan biomassa kemudian dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut.

$$\text{kerapatan biomasa} = \frac{\text{massa biomassa basah (gram)}}{\text{volume kultur (liter)}} \dots (2)$$

Setelah dipanen kemudian dikeringkan dengan freeze dry dan dikarakterisasi biomassa keringnya.

Ekstraksi

Ekstraksi biomassa dilakukan dengan cara dingin (maserasi). Sebelum maserasi dilakukan sonikasi selama 3 jam ekstraksi dilakukan dengan cara bertingkat menggunakan pelarut n-heksana- etil asetat-etanol selama 3x24 jam dengan perbandingan 1:5. Ekstrak yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram kertas, dianalisis dengan metode biautografi dan GC-MS.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Aktivasi Mikroalga

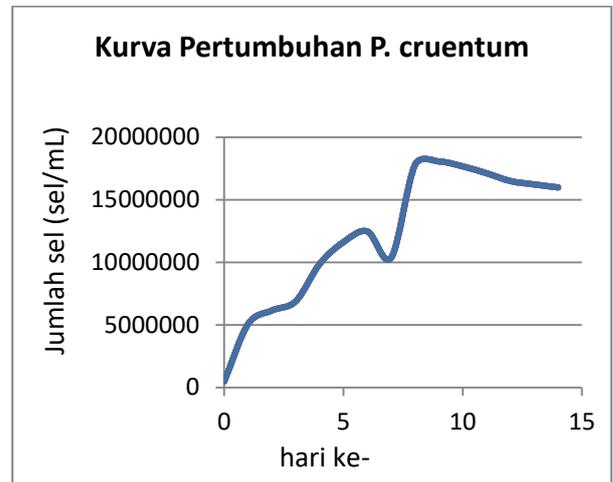
Sampel mikroalga laut *Porphyridium cruentum* yang didapatkan dari Oseanografi LIPI Ancol diaktivasi di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Aktivasi mikroalga dilakukan dalam medium walne. Medium ini dipilih karena medium walne merupakan medium normal yang kaya akan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroalga. Aktivasi ini dilakukan selama 4 hari, karena selama waktu 4 hari mikroalga dapat tumbuh dan beradaptasi dengan medium dan lingkungan barunya. Proses adaptasi ini diperlukan untuk persiapan pertumbuhan mikroalga. Perubahan pada kondisi tumbuh dapat menjadi penyebab gangguan pada pertumbuhan mikroalga seperti pada fase perlambatan pertumbuhan bahkan bisa menyebabkan adanya kontaminasi dan kematian pada mikroalga⁶.

2. Kurva Pertumbuhan

Tujuan dari pembuatan kurva pertumbuhan tentunya untuk melihat waktu pemanenan yang optimum. Kurva pertumbuhan dibuat selama 14 hari, dalam rentang lama waktu tersebut diamati lima fasa, yaitu fasa adaptasi, eksponensial, perlambatan pertumbuhan, stasioner dan kematian. Metode untuk penentuan kurva pertumbuhan pada kali ini dilakukan dengan metode Haemocytometer dan metode Optical Density.

a. Metode Haemocytometer

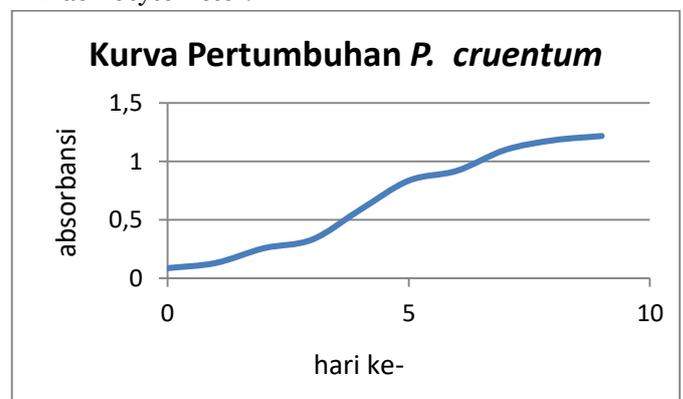
Penentuan kurva pertumbuhan metode ini dengan melihat pembelahan sel mikroalga *P. cruentum* setiap 1x24 jam. Dengan metode ini dihitung kepadatan sel yang dinyatakan dengan satuan jumlah sel/ml setiap harinya. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan Persamaan 1. Kurva pertumbuhan berdasarkan metode ini dapat dilihat pada Gambar 1. Hari ke- 0-1 mikroalga memasuki fasa adaptasi, dimana mikroalga mulai mengenal medium dan lingkungan tempat tumbuh. Waktu adaptasi mikroalga *P. cruentum* tidak begitu lama. Hari ke- 1-7 terjadi peningkatan sel atau sama halnya dengan fasa eksponensial. Fasa eksponensial merupakan fasa pertumbuhan ketika terjadi pembelahan sel yang sangat cepat, sehingga pertumbuhan mikroalga mengalami peningkatan yang signifikan⁷. Hal ini ditandai dengan kepadatan sel yang tinggi dan perubahan warna kultur menjadi lebih pekat. Untuk penentuan masa panen ditentukan dengan menghitung laju pertumbuhan. Hari ke 8 terjadi peningkatan sel optimum pada mikroalga atau memasuki fasa perlambatan sel. Pada waktu inilah mikroalga dapat dipanen. Fasa kematian mikroalga mulai pada hari ke- 10.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *P. cruentum* berdasarkan Metode Haemocytometer

b. Metode Optical Density

Pemilihan dari spektrofotometri (*visible*) ini tentunya dari warna sampel mikroalga *Porphyridium cruentum* yang berwarna merah. Sebelum melakukan pengukuran terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk pengukuran kultur dan didapatkan hasil $\lambda = 680$ nm. Panjang gelombang ini yang digunakan untuk mengamati proses pertumbuhan dari mikroalga. Pada metode *Optical Density* ini pengamatan pada waktu panen sulit untuk diamati karena terus terjadi peningkatan nilai absorbansi. Hal ini bisa disebabkan karena semakin pekatnya warna dari mikroalga *P. cruentum* semakin tinggi pula nilai absorbansi yang dihasilkan. Sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menyatakan hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi dan pekat larutan merupakan garis linier. Semakin sulit juga menentukan fasa perlambatan pertumbuhan untuk pemanenan mikroalga. Sehingga penentuan masa panen menggunakan hasil metode Haemocytometer.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *P. cruentum* berdasarkan *Optical Density*

3. Pemanenan Mikroalga *Porphyridium cruentum*

Setelah diketahui hari pemanenan yang tepat dari kurva pertumbuhan yang sebelumnya dikerjakan,

sampel mikroalga *Porphyridium cruentum* dipanen dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 5000-6000 rpm selama 20-30 menit. Metode sentrifugasi dipilih karena metode ini sangat efisien dibandingkan teknik flokulasi dan filtrasi. Hasil dari sentrifugasi dikumpulkan selanjutnya dipisahkan antara supernatan dan pellet (biomasa basah). Biomassa basah kemudian ditimbang dan dilanjutkan pengeringan dengan cara *Freeze Dry*. Tujuan dari pengeringan ini yaitu menghilangkan kandungan air agar tidak mengganggu proses ekstraksi dan sampel mikroalga bertahan lama tidak ditumbuhi jamur dan bakteri. Hasil biomasa basah hasil panen mikroalga *P. cruentum* sebanyak 401,69 g, dan hasil biomassa kering yang diperoleh sebanyak 25,23 g. Jumlah kerapatan sel biomassa 50,94363607 g/L (didapatkan dari persamaan 2).

4. Karakterisasi biomassa kering

Karakterisasi biomassa kering dari mikroalga *Porphyrium cruentum* sama seperti pada simplisia. Ada beberapa karakterisasi yang dilakukan meliputi penetapan kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan susut pengeringan. Tujuan dari karakterisasi ini untuk mengetahui kualitas dari biomassa yang digunakan sebagai bahan dalam penelitian. Setiap parameter uji karakterisasi memiliki persyaratan yang harus dipenuhi untuk dapat menjamin mutu dari bahan yang digunakan.

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk menunjukkan kandungan mineral yang terkandung di dalam biomassa mikroalga *Porphyrium cruentum* baik mineral internal maupun eksternal⁸. Bahan organik yang ada didalam bahan akan terbakar oleh proses pembakaran dengan tanur, akan tetapi bahan anorganik seperti silikat akan tertinggal. Hasil penetapan kadar abu total mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 45,33 %, sedangkan kadar abu tidak larut asam mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 20,67 %. Kadar abu tidak larut asam menunjukkan kadar pengotor yang terdapat pada sampel.

Dari data hasil kadar abu total biomassa mikroalga *Porphyrium cruentum* didapatkan hasil kadar abu total yang tinggi dan melebihi batas normal (> 10 %). Tingginya kadar abu total pada penelitian ini diduga karena biomassa setelah pemanenan tidak dicuci, sehingga masih tercampur dengan garam mineral dari media kultur *Porphyrium cruentum*. Hal ini bisa juga disebabkan karena mikroalga ini banyak mengandung mineral dan hal ini sejalan dengan jenis mikroalga *Porphyrium cruentum* yang merupakan diatom yang memiliki silika pada dinding selnya. Selain itu mikroalga dikultivasi menggunakan air laut yang disertai penambahan mineral tertentu untuk menunjang pertumbuhan mikroalga laut. Selain itu

air laut mengandung berbagai komponen mineral diantaranya Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, (SO₄²⁻) dan Br⁻.

Penetapan kadar sari ini bertujuan untuk menggambarkan jumlah sari atau senyawa yang dapat terlarut dalam suatu pelarut tertentu⁸. Pada penetapan kadar sari ini menggunakan dua pelarut yaitu air dan etanol. Hasil penetapan kadar sari larut air mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 53,65 %, hasil itu menunjukkan banyaknya senyawa yang terlarut dalam pelarut air. Sedangkan penetapan kadar sari larut etanol menunjukkan banyaknya senyawa yang terlarut dalam pelarut etanol, hasil penetapan kadar sari larut etanol mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 36,16 %. Dari hasil yang didapat kadar sari larut air lebih besar dibandingkan kadar sari larut etanol. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang larut dalam air lebih tinggi dibanding senyawa yang larut dalam etanol dari mikroalga *Porphyrium cruentum*.

Susut pengeringan merupakan parameter untuk menggambarkan kadar zat yang menguap di dalam suatu bahan, selain itu menggambarkan batasan maksimum rentang besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan⁸. Hasil susut pengeringan mikroalga *Porphyrium cruentum* adalah sebesar 7,82 %.

5. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Proses ini dipilih karena merupakan proses yang paling sederhana dan efektif juga tidak memerlukan peralatan khusus. Maserasi dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan pelarut n-heksan - etil asetat-etanol, dengan prinsip *like dissolved like*, dimana pelarut yang bersifat non polar akan melarutkan senyawa-senyawa non polar yang ada pada sampel, begitupun pelarut yang bersifat semi polar dan polar. Sebelum proses maserasi dilakukan terlebih dahulu biomassa kering mikroalga *P. cruentum* disonikasi dengan tujuan agar dinding sel mikroalga dapat pecah. Hasil dari proses ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1.
Rendemen ekstrak *P. cruentum*

Pelarut	Bobot sampel (g)	Hasil ekstrak (g)	Hasil Rendemen (%)	Warna ekstrak
n-heksana	25	0,19	0,76	Hijau muda
Etil asetat	25	0,25	1	Hijau pekat
Etanol	25	6,57	26,28	Hijau Pekat

6. Pengujian Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak mikroalga laut *P. cruentum* menggunakan metode difusi cakram kertas. Pengujian dilakukan secara

triplo. Konsentrasi dari masing-masing ekstrak secara berturut-turut yaitu 0.5 %, 1 %, 2 %, kontrol positif menggunakan antibiotik tetrasiklin 256 ppm dan DMSO 8 % sebagai kontrol negatif. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2.
Pengujian terhadap bakteri *P. acne*

%	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD	kategori
	1	2	3		
n-heksana					
2	8	7.8	6.4	7.4 ± 0.9	sedang
1	7.4	7	6.3	6.9 ± 0.6	sedang
0.5	6.6	6.8	6.2	6.5 ± 0.3	sedang
kontrol +	36	35.9	36.1	36 ± 0.1	sangat kuat
kontrol -	-	-	-	-	-
etil acetat					
2	6.7	7.3	7.6	7.2 ± 0.5	sedang
1	6.3	6.6	7.4	6.8 ± 0.6	sedang
0.5	6.1	6.3	7.1	6.5 ± 0.5	sedang
kontrol +	35.9	36.1	35.7	36 ± 0.1	sangat kuat
kontrol -	-	-	-	-	-
Etanol					
2	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-
kontrol +	28.3	27.9	27.5	28 ± 0.4	sangat kuat
kontrol -	-	-	-	-	-

Keterangan : (-) tidak memberikan zona hambat

Berdasarkan Tabel 2 dan 3 zona bening yang diperoleh uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri *P. acne* (Tabel 2) ekstrak n-heksana dan etil acetat menunjukkan diameter zona bening. Tetapi pada ekstrak etanol tidak terbentuk zona bening di area cakram. Zona bening yang diperoleh pada bakteri *S. epidermidis* (Tabel 3) hanya terdapat pada ekstrak n-heksana pada konsentrasi 2 % sebesar 6,5 ± 0,3 mm. Pada ekstrak etil asetat dan etanol tidak terbentuk zona bening di area cakram. Terbentuknya zona bening pada kedua bakteri (*P. acne* dan *S. epidermidis*) terjadi karena terdapat kandungan senyawa antibakteri dari ekstrak mikroalga laut *Porphyridium cruentum*. Kepekaan zat antibakteri dari ekstrak terhadap bakteri *P. acne* dan *S. epidermidis* berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak yang dibuat, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin besar pula diameter zona bening yang dihasilkan. Ekstrak terbaik yang memberikan aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri (*P. acne* dan *S. epidermidis*) yaitu ekstrak n-heksana. Digunakan tetrasiklin sebagai kontrol positif, pemilihan tetrasiklin ini karena merupakan antibiotik yang memiliki spektrum luas yang dapat membunuh bakteri patogen⁹. DMSO 8% juga digunakan sebagai kontrol negatif karena pada saat melarutkan ekstrak menggunakan DMSO 8%, hasil pengamatan dari DMSO 8% tidak menunjukkan diameter zona bening disekitar cakram, dengan demikian aktivitas antibakteri murni dari senyawa yang terkandung dari ekstrak mikroalga laut *Porphyridium cruentum*.

Tabel 3.
Pengujian terhadap bakteri *S. epidermidis*

Konsentrasi %	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD	kategori
	1	2	3		
n-heksan					
2	6.3	6.8	6.4	6.5 ± 0.3	sedang
1	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-
kontrol +	25.1	24.3	24.8	25 ± 0.4	sangat kuat
kontrol -	-	-	-	-	-
etil acetat					
2	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-
kontrol +	25.9	26.1	25.1	26 ± 0.3	sangat kuat
kontrol -	-	-	-	-	-
Etanol					
2	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-
0.5	-	-	-	-	-
kontrol +	24.2	23.8	24.4	24 ± 0.4	sangat kuat
kontrol -	-	-	-	-	-

Keterangan : (-) tidak memberikan zona hambat

Hasil pengujian semua ekstrak menghasilkan zona bening dengan diameter yang hampir mirip pada setiap ekstrak dan konsentrasi. Apabila zona hambat yang terbentuk <5 mm maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah. Jika

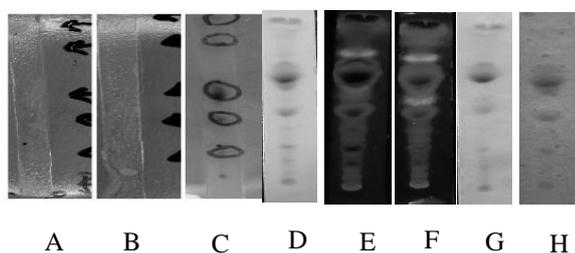
memiliki zona hambat sekitar 5-10 mm digolongkan kekuatannya sedang dan 10-19 mm digolongkan kuat dan >20 digolongkan sangat kuat. Semua ekstrak berada pada rentang 5-10 mm maka

kekuatan ekstrak mikroalga *Porphyridium cruentum* ini digolongkan sedang⁸.

7. Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Antibakteri Bioautografi

Ekstrak yang memiliki senyawa aktif antibakteri yang dipilih pada pengujian bioautografi ini yaitu ekstrak n-heksan. Pemilihan ekstrak ini dikarenakan senyawa n-heksan dapat memberikan zona bening pada pengujian cakram kertas yang terlebih dahulu dilakukan terhadap kedua bakteri (*P. acne* dan *S. epidermidis*).

Berdasarkan pengujian bioautografi ekstrak n-heksan yang telah dilakukan dapat diamati pada Gambar 3, (A) dan (B) hasil kromatogram tidak memberikan zona bening pada media agar, berbeda dengan hasil ekstrak n-heksan yang dicelupkan pada cakram yang memberikan diameter zona bening, hal ini disebabkan karena senyawa aktif yang terdapat pada kromatogram bersifat lemah (tidak aktif) karena senyawa sudah terpisahkan. Dengan demikian golongan senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam ekstrak n-heksan tidak dapat ditentukan. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak n-heksan yang telah diberikan penampak bercak (gambar 3: (D), (F), (G), (H)), terdapat flavonoid dan fenol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Setyaningsih, dkk., pada tahun 2013¹⁰. Pada penelitian lain menurut Salamah, dkk.¹¹, pada tahun 2008 *Porphyridium cruentum* mengandung golongan flavonoid, yang menyatakan bahwa golongan flavonoid mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi salah satunya aktivitas antibakteri. Diduga bahwa senyawa aktif antibakteri yang terkandung pada ekstrak n-heksan bukan golongan flavonoid dan fenol melainkan golongan senyawa lain.



Gambar 3. Kromatogram (A) terhadap bakteri *P. acne*, (B) terhadap bakteri *S. epidermidis*, (C) yang ditempel pada media agar terhadap bakteri, fase diam silika gel F₂₅₄, fase gerak non polar n-heksan-etil asetat-etanol (8:1.5:0.5), visual H₂SO₄ 10 % (D), sinar UV λ 366 nm AlCl₃ 5 % (E), sinar UV λ 366 nm sitroborat 10 % (F), visual FeCl₃ 10% (G), DPPH (H).

8. Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Antibakteri GC-MS

Ekstrak n-heksan yang aktif sebagai antibakteri diidentifikasi menggunakan GC-MS. Pengujian ini dilakukan untuk melihat golongan senyawa asam

lemak yang aktif sebagai antibakteri yang terkandung dalam ekstrak n-heksan mikroalga laut *P. cruentum*. Sebelumnya telah dilakukan identifikasi menggunakan metode bioautografi tetapi hasil yang diperoleh bakteri tidak peka terhadap senyawa yang terdapat pada kromatogram yang ditempel pada media.

Hasil identifikasi senyawa aktif antibakteri yang terdapat pada ekstrak mikroalga laut *Porphyridium cruentum* menggunakan GC-MS terdapat enam (6) senyawa asam lemak yaitu, asam palmitat, asam valerat, asam linoleat, asam stearat, asam arakidonat, asam eikosapentaenoat. Senyawa asam lemak yang dominan pada ekstrak yaitu asam palmitat sebanyak 18,23 % dengan kemiripan 99%, asam arakidonat sebanyak 14,82 % dengan kemiripan 95% dan asam eikosapentaenoat 12,49 dengan kemiripan 94%. Hal ini sesuai berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan Kusmiyati pada mikroalga *Porphyridium cruentum* senyawa asam lemak yang aktif terhadap bakteri (*E. coli*, *B. subtilis* dan *S. aureus*) yaitu senyawa asam palmitat. Pada penelitian lain yang dilakukan Kabara pada tahun 1983¹² jenis asam lemak bebas yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Clostridium welchii* diantaranya asam arakidonat dan asam eikosapentaenoat. Diduga senyawa aktif antibakteri yang terdapat pada ekstrak n-heksan mikroalga laut *Porphyridium cruentum* yaitu asam palmitat, asam arakidonat, dan asam eikosapentaenoat. Mekanisme kerja asam lemak menurut Naviner et al¹³, pada tahun 1999 yaitu asam lemak 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 diujikan¹⁴.

D. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah diujikan dapat disimpulkan bahwa mikroalga laut *Porphyridium cruentum* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus epidermidis*. Hasil diameter yang diperoleh dari ekstrak n-heksan dan etil asetat terhadap bakteri *Propionibacterium acne* mulai dari konsentrasi 0,5 %, 1%, 2% secara berturut-turut diperoleh 6,5 ± 0,3; 6,9 ± 0,6; 7,4 ± 0,9; dan 6,5 ± 0,3; 6,8 ± 0,6; 7,2 ± 0,5. Begitupun dari ekstrak n-heksan terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 2% diperoleh diameter 65 ± 0,3.

Hasil identifikasi golongan senyawa aktif antibakteri diduga berasal dari golongan senyawa asam lemak yang terdiri dari asam palmitat, asam arakidonat dan asam eikosapentaenoat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana atas pemberian dana penelitian yang diberikan.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Borowitzka MA, Borowitzka LJ, *Mikroalgal Biotechnology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1988
- [2] Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker, *Biology of Microorganisms. 12th ed*, Prentice Hall International, New York, 2009
- [3] Anggraeni, V.J., Kurnia, D., "Identifikasi Bakteri Penghasil Inhibitor β Laktamase dari Isolat Pabrik Tahu Sumedang", *Farmagazine*, Vol 5, No. 3, h. 1-7, Agustus 2018
- [4] Kusmiyati, Agustini, N.W.S, "Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*", *Biodiversitas*, Vol 8, No. 1, h. 48-53, Januari 2017
- [5] Ramdanawati, L., Kurnia, D., Tyas, V. A. K., Nurachman, Z., "Analisis Komposisi Asam Lemak dari Mikroalga Laut *Navicula salinicola*", *Al-kimia*, vol 6, No. 2, h. 141-149, 2018
- [6] Kurnia, D., Asri, R., Dinata, D. I., Nurachman, Z., "Analisis Asam Lemak Mikroalga Laut *Chlorella sp.* Pada Medium Modifikasi dengan Kromatografi Gas Spektrometri Massa", *Journal of Pharmacopolium*, Vol 1 No. 1, h. 1-8, April 2018
- [7] Barsanti, L. dan Gualtieri, P., *Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, Taylor dan Francis Group, Florida, 2006
- [8] Departemen Kesehatan RI, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta, 2000
- [9] Sari, I. P., Wibowo, M. A., & Arreneuz, S., "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang Butoh Keling (*Holothura leucospilota*) dari Pulau Lemukutan terhadap bakteri *Propionium acne* dan *Staphylococcus Epidermis*", *Jurnal Administrasi Publik*, Vol 1, No. 2, h. 131-139, 2011
- [10] Setyaningsih, I., et al. "Komposisi kimia dan aktivitas antihiperlipemik. *JPHPI*, Vol. 16, No. 1, h. 79-85, Mei 2013
- [11] Salamah E, Ayuningrat E, Purwaningsih S. "Penapisan Awal Komponen Bioaktif dari Kijing Taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai Senyawa Antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, Vol. 11, No. 2, h. 119-133, 2008
- [12] Kabara, J.J., "Medium-chain Fatty Acids and Esters" In Branen, A. L. and P.M. Davidson, *Antimicrobials in Foods*. Marcel Dekker Inc., New york, 1983
- [13] Naviner M, Bergee JP, Durand P, Le Bris H., "Antibacterial Activity of the Marine Diatom *Skeletonema costatum* Against Aquacultural Pathogens", *Journal Aquacultur*, Vol. 174, h. 15-24, 1999
- [14] Anggraeni, V.J. et al., "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Mikroalga *Thalassiosira sp* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium cane*", *Jurnal Kimia Riset*, Vol 4, No. 1, h. 62-73, Juni 2019