

UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIBANKTERI YANG DIHASILKAN *Chlorella sp.* PADA BAKTERI UJI *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harvei*, *Aeromonas hydrophyla*, *E. coli* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

Ahmad Talib

Staf Pengajar THP UMMU-Ternate, e-mail: madoks75@yahoo.co.id

ABSTRAK

Chlorella sp. adalah mikroalga hijau bersel tunggal (uniseluler) yang bersifat non motil, hidup bebas menyendiri atau berkelompok. Sebagian besar hidup di perairan tawar dan sebagian kecil hidup di laut, dan beberapa spesies hidup bersimbiosis dengan protozoa, hydra, sponge atau mikroorganisme perairan lainnya. *Chlorella sp.* merupakan organisme yang terdapat dan hidup dimanamana, kecuali gurun pasir dan salju abadi. *Chlorella sp.* dapat hidup di tanah atau tempat-tempat basah dan dalam kultur memiliki pertumbuhan yang cepat. *Chlorella sp.* merupakan alga yang pertama kali diisolasi serta ditumbuhkan pada kultur murni. Dari berbagai uji aktifitas yang dilakukan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pupuk (urea dan TSP) dapat digunakan sebagai medium pertumbuhan *Chlorella sp.* dan produksi antibakteri dari *Chlorella sp.* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *V. harveyi*, *A. hydrophyla*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*. Meskipun yield yang dihasilkan lebih sedikit dari kultur dengan medium Guillard, namun besar zona hambat yang terbentuk memiliki diameter yang tidak jauh berbeda.

Kata Kunci : *Chlorella*, *Aureus*, Guillard

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikroalga merupakan fitoplankton, organisme fotosintetik mikroskopik yang melakukan aktivitas sebagai produksi primer yaitu berfotosintesis menghasilkan zat makanan sebagai hasil dari metabolisme. Mikroalga merupakan organisme uniseluler yang hidup di air tawar atau pun laut dimana mekanisme fotosintesisnya sama dengan tumbuhan tingkat tinggi. Mikroalga ini merupakan sumber makanan penting bagi organisme perairan. Jenis mikroalga ini adalah *Bacillariophyceae* (Diatom), *Chlorophyta* (Green algae), *Cyanophyta* (Blue green algae), *Chrysophyta* (Golden algae), dan *Rhodophyta* (red agae).

Berbagai faktor gizi merupakan komponen mutlak dalam nutrisi manusia. Kebutuhan akan faktor-faktor ini terus meningkat seiring dengan peningkatan jumlah penduduk dunia. Tidak ada lagi keraguan bahwa salah satu faktor pembatas nutrisi

adalah ketersediaan nutrisi. Dalam hal ini dunia kelautan memegang peranan penting karena berbagai organisme laut fotosintetik ternyata menunjukkan kandungan protein yang tinggi, mikroalga salah satunya. Ada dua macam produk utama dari mikroalga yaitu produk endoseluler seperti gliserol, lemak, protein, pigmen, dan lainnya, serta produk eksoseluler seperti polisakarida dan hidrokarbon.

Beberapa potensi penggunaan mikroalga secara umum adalah sebagai *pharmaceutical* (antimikroba, anti kanker dan anti virus), *nutraceutical* untuk kesehatan manusia, *agricultural*, lingkungan (sifat absorbsinya yang menyerap polutan), *food aditif*, pakan dan antibakteri pada kegiatan *aquaculture*, dan sebagai bahan kimia (pigmen, biodisel, dan biohidrogen).

Salah satu jenis mikroalga yang potensial untuk dikembangkan adalah *Chlorella sp.* yang telah diproduksi secara besar-besaran untuk makanan kesehatan, maupun *food additive* untuk meningkatkan

kandungan gizi suatu bahan makanan. Hal ini disebabkan karena *Chlorella* sp. memiliki kandungan gizi yang lengkap, diantaranya protein, lemak, karbohidrat, vitamin, mineral, serat, klorofil, β -carotene dan *Chlorella Growth Factor* (CGF). Sargowo dan Ratnawati (2005) menyatakan bahwa *Chlorella* sp mengandung : 60.5% protein, 11% lemak, 20.1% karbohidrat, 4.6% mineral dan serat 0.2% .

Chlorella adalah contoh khas alga satu sel yang tidak mempunyai kemampuan untuk bergerak (non motile). Sel *Chlorella* berbentuk bulat sampai elips dengan ukuran sel 2-12 μ m. Kloroplasnya biasanya tunggal berbentuk tapal kuda. *Chlorella* selain kaya akan kandungan pigmen klorofil yaitu 28,9 gr/kg, juga mengandung pigmen β -carotene yaitu 180 mg/100g. β -carotene selain dapat dijadikan sebagai sumber pigmen alami bagi pakan ikan (terutama ikan hias), karena dapat menghasilkan warna yang menarik bagi ikan-ikan hias, β -carotene juga sangat bermanfaat untuk kesehatan, diantaranya dapat menghancurkan sel kanker, meningkatkan pembuatan makrofage, stimulator penolong sel-sel T dan sinergis dengan vitamin E sebagai antioksidan (Steenblock, 1995).

Selain menghasilkan pigmen dan komponen gizi yang lengkap, *Chlorella* juga menghasilkan komponen bioaktif yaitu senyawa antibakteri yang merupakan hasil dari metabolit sekunder sel. Bahan antibakteri dari *Chlorella* sp. merupakan suatu campuran asam lemak yang disebut *chlorellin* yang memperlihatkan aktivitas antibakteri dan autotoksin (Metting dan Pyne, 1986).

Trianti (1988) melaporkan bahwa ekstrak intraseluler dan ekstraseluler yang dihasilkan pada fase tengah stasioner dan akhir stasioner dari mikroalga *Chlorella* sp. dalam medium PHM-1 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. Coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. Penelitian ini akan dipelajari bagaimana mengekstrak senyawa antibakteri dari *Chlorella* dan bagaimana proses penghambatan terhadap berbagai jenis bakteri, baik bakteri gram positif maupun negatif. Masih sedikitnya informasi tentang pengaruh medium yang berbeda untuk pertumbuhan *Chlorella* dan kaitannya dengan produksi metabolit sekunder, merupakan salah satu

alasan dilakukannya penelitian ini. Dua jenis medium digunakan untuk membandingkan pertumbuhan dan hasil metabolit yang diproduksi.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Melakukan kultivasi mikroalga *Chlorella* sp.
2. Mengetahui dan menentukan fase pertumbuhan *Chlorella* sp. yang dikultivasi pada medium f (*Guillard*) dan medium pupuk.
3. Membandingkan pertumbuhan dan produksi komponen aktif dari medium pupuk dan medium f (*Guillard*)
4. Mengekstrak senyawa antibakteri intraseluler dari *Chlorella* sp.
5. Melakukan uji aktivitas senyawa antibakteri yang dihasilkan *Chlorella* sp. pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyi*, *Aeromonas hydrophyla*, *E. Coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

II. METODOLOGI

2.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Bioteknologi Kelautan, Program Studi Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB-Bogor. Sedangkan waktu penelitian dilakukan mulai 14 Maret – 30 April 2009.

2.2. Bahan dan Alat

a. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur *Chlorella* sp., dan bakteri uji Gram-positif dan Gram-negatif; *Staphylococcus aureus*, *E. Coli*, *Vibrio harveyi*, *Aeromonas hydrphyla*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Bahan lain yang digunakan adalah pelarut organik metanol, media *nutrien agar*, *nutrien broth*, media *Mueller Hinton Agar*, aluminium foil, akuades, *paper disc* berdiameter 6 mm, kertas saring, *klorampenikol* dan medium f (*Guillard*).

b. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Peralatan yang digunakan untuk kultur dan penentuan kurva pertumbuhan

- mikroalga *Chlorella* sp. seperti : erlenmeyer berukuran 1000 ml (1 liter), toples berkapasitas 2 liter, gelas ukur, selang silikon, aerator, aluminium foil, lampu neon 20 watt, pipet volumetrik, hemasitometer, tabung reaksi, timbangan analitik, pembakar spiritus, autoklaf dan mikroskop.
2. Peralatan yang digunakan untuk panen dan ekstraksi senyawa antibakteri *Chlorella* sp. antara lain : sentrifuse, tabung sentrifuse, *sonicator*, corong, tabung reaksi, erlenmeyer, *magnetic stirrer*, aluminium foil, *hot plate*, kertas saring, evaporator dan botol ekstrak
 3. Peralatan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dari mikroalga *Chlorella* sp. pada bakteri gram positif dan bakteri gram negatif antara lain : tabung reaksi, cawan petri, pipet mikro, vortex, *spektrofotometer*, jarum ose, pinset dan inkubator.

2.3. Prosedur Kerja

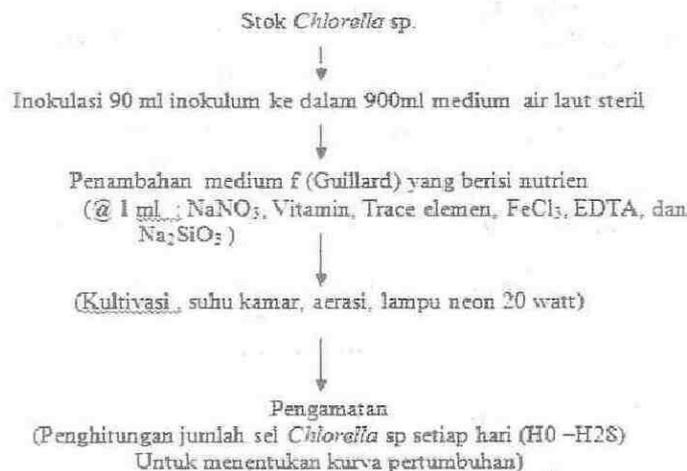
Penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap, yaitu kultivasi *Chlorella* sp. dalam medium f (Guillard) steril, ekstraksi senyawa antibakteri intraseluler dari *Chlorella* sp. dan uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Chlorella* sp.

a. Kultivasi *Chlorella* sp.

Kultivasi *Chlorella* sp. dilakukan dalam 2 tahap, yaitu kultivasi tahap pertama bertujuan untuk menentukan kurva pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. Selama kultivasi pada tahap pertama, dilakukan pengambilan contoh setiap hari untuk mengetahui jumlah sel/ml.

Sedangkan kultivasi tahap kedua bertujuan untuk menentukan umur panen atau pemanenan biomassa mikroalga *Chlorella* sp. pada fase stasioner, yang akan digunakan untuk ekstraksi bahan antibakteri. Penghitungan jumlah sel/ml tidak dilakukan setiap hari tetapi hanya pada hari pertama kultivasi dan pada akhir kultivasi (pemanenan kultur).

Skema proses kultivasi *Chlorella* sp. tahap pertama seperti pada Gambar 1. Mula-mula stok *Chlorella* sp. sebanyak 90 ml diinokulasikan kedalam 900 ml medium air laut steril yang telah ditambahkan medium f (Guillard) steril (yang berisi nutrisi masing-masing 1 ml, yang terdiri dari NaNO_3 , Vitamin, Trace elemen, FeCl_3 , EDTA, dan Na_2SiO_3). Selanjutnya dikultivasi pada suhu ruang, dilakukan aerasi dengan menggunakan aerator dan diberi penyinaran dengan lampu neon 40 watt dengan intensitas cahaya kurang lebih 2000 lux. Sebelumnya medium yang akan digunakan untuk kultivasi *Chlorella* sp. disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

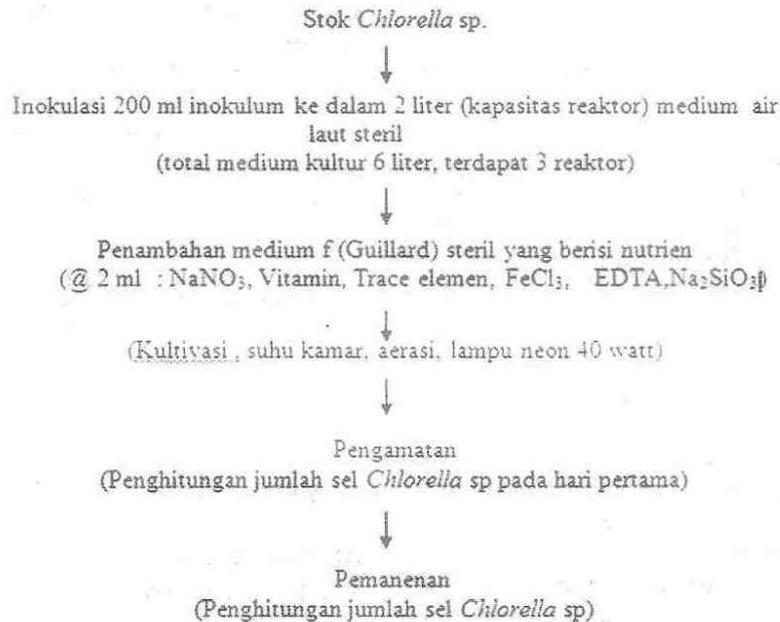


Gambar 1. Skema proses kultur *Chlorella* sp. tahap pertama

Sedangkan skema kultivasi tahap kedua seperti pada Gambar 2. Mula-mula *Chlorella* sp. sebanyak 200 ml diinokulasikan kedalam 2 liter medium air laut steril kemudian

ditambahkan medium f (Guillard) steril yang berisi nutrisi masing-masing 2 ml, yang terdiri dari NaNO₃, Vitamin, Trace elemen, FeCl₃, EDTA, dan Na₂SiO₃. Selanjutnya dikultivasi pada suhu ruang, dilakukan aerasi dengan menggunakan aerator dan diberi

penyinaran dengan lampu neon 40 watt dengan intensitas cahaya kurang lebih 2000 lux. Sebelumnya medium yang akan digunakan untuk kultivasi *Chlorella* sp. disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.



Gambar 2. Skema Proses Kultur *Chlorella* sp. Tahap Kedua

b. Penentuan Pola Pertumbuhan

Pertumbuhan *Chlorella* sp diamati dengan cara mengambil sampel setiap hari, kemudian menghitung jumlah sel secara langsung dan selanjutnya nilainya dikonversikan ke dalam logaritmik. Selanjutnya dibuat kurva pertumbuhan dengan jumlah sel (logaritmik) sebagai sumbu Y dan waktu (hari) sebagai sumbu X.

Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan metode hitungan langsung sebagai berikut :

- a. Permukaan hitung hemasitometer dan kaca penutup dibersihkan dari sisa-sisa minyak.
- b. Tutup kaca hemasitometer diletakkan pada permukaan hemasitometer. Suspensi biakan *Chlorella* sp. hasil pengambilan contoh dikocok, kemudian diambil dengan mikropipet sebanyak 20 µl. Suspensi tersebut diteteskan pada tempat menaruh sampel yang terdapat pada hemasitometer hingga suspensi

Chlorella sp. menyebar pada ruang hitung.

- c. Hemasitometer ditaruh diatas pentas mikroskop. Jumlah sel yang terdapat dalam 80 kotak kecil yang terletak dalam kotak tengah yang berukuran 0.2 mm² (5 x 16 x 0,0025 mm²) dihitung dengan mikroskop pada perbesaran 40 X. Perhitungan jumlah sel dilakukan sebanyak 2 kali ulangan.
- d. Formulasi yang dipakai dalam menghitung kepadatan sel adalah sebagai berikut :

$$N = \frac{(\sum N_1 + \sum N_2)}{2} \times X_1 \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

- N = Kepadatan sel (sel/ml)
- ∑N1 = Jumlah sel dalam 80 kotak kecil (ulangan 1)

- $\Sigma N2$ = Jumlah sel dalam 80 kotak kecil (ulangan 2)
 1 mm = Panjang hemasitometer dalam kotak kecil
 0,2 mm = Lebar hemasitometer dalam 80 kotak kecil
 0,1 mm = Tinggi hemasitometer

$$\frac{1 \text{ mm}^3}{10^{-3} \text{ ml}} = \text{Faktor konversi dari mm}^3 \text{ ke ml.}$$

- e. Hasil perhitungan diplotkan pada grafik hingga diperoleh kurva pertumbuhan dengan umur kultur (hari) sebagai sumbu X dan log kepadatan sel (sel/ml) sebagai sumbu Y.

c. Ekstraksi senyawa antibakteri

Ekstraksi senyawa antibakteri intraseluler *Chlorella* sp. dilakukan dengan modifikasi metode Handayani (1999). Ekstraksi senyawa antibakteri intraseluler *Chlorella* sp dilakukan dengan pemanenan kultur mikroalga *Chlorella* sp pada saat mencapai fase stasioner. Proses ekstraksi untuk menghasilkan ekstrak intraseluler *Chlorella* sp dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil panen dari kultur *Chlorella* sp. dipisahkan antara supernatan dan biomasanya dengan menggunakan alat sentrifuse pada kecepatan 12.000 rpm selama 25 menit, kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring Whatman untuk mendapatkan biomasanya. Teknik pemisahan dengan sentrifuse merupakan salah satu cara yang efisien karena dapat memisahkan supernatan dan biomassa dengan lebih sempurna dalam waktu yang relatif singkat (Vonshak, 1997).

Selanjutnya biomassa yang diperoleh ditambahkan pelarut metanol sebanyak 3 ml untuk dilakukannya sonikasi atau pemecahan sel dengan *sonicator* selama 10 menit. Biomassa hasil dari sonikasi selanjutnya diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1 gr boimassa : 25 ml pelarut metanol. Kemudian dilakukan maserasi I selama 24 jam, yaitu dengan dilakukannya perendaman biomassa dalam

pelarut metanol dan pengadukan dengan pengaduk magnet *magnetic stirer*.

Hasil maserasi I yang berupa larutan kemudian disaring dengan kertas saring Whatman sehingga didapat filtrat I dan residu. Residu yang dihasilkan selanjutnya dimaserasi kembali (Maserasi II) dengan pelarut metanol selama 24 jam. Hasil maserasi II yang berupa larutan kemudian disaring kembali dengan kertas saring Whatman sehingga didapat filtrat II dan residu. Selanjutnya filtrat I dan filtrat II yang diperoleh dievaporasi hingga pelarut memisah dengan ekstrak. Berdasarkan proses ini maka akan diperoleh ekstrak senyawa antibakteri.

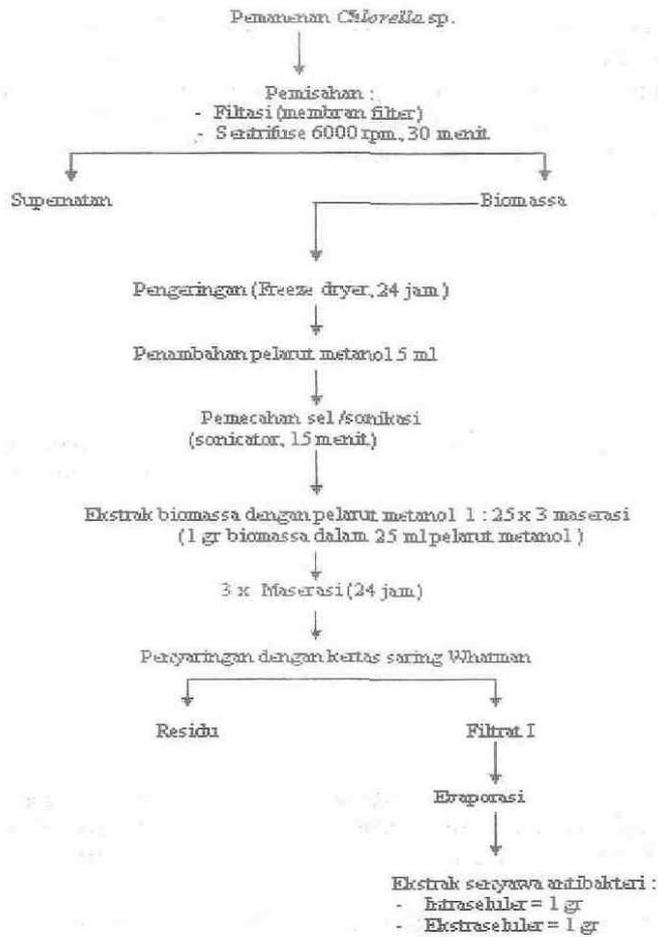
d. Pengujian aktivitas antibakteri

Tahap ini meliputi persiapan dan pembuatan media bakteri, penyegaran bakteri uji dan uji aktivitas antibakteri. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*, *E. Coli*, *Vibrio harveyi*, *Aeromonas hydrphyla* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kultivasi *Chlorella* sp.

Pada penelitian ini, mikroalga *Chlorella* sp. di kultivasi di laboratorium dengan menggunakan medium f (*Guillard*) dan pupuk (urea dan TSP) secara *clean process*, yaitu dengan menggunakan air laut steril sebagai mediumnya dan dilakukan penambahan nutrien antara lain : NaNO_3 , vitamin, *trace element*, FeCl_3 , EDTA, dan Na_2SiO_3 . Kegiatan penelitian diawali dengan melakukan penyegaran sebanyak 100 ml *Chlorella* sp. dari stok yang sudah ada pada medium f (*Guillard*) sebanyak 900 ml. Penyegaran dilakukan dengan maksud untuk mengoptimalkan kemampuan tumbuh *Chlorella* sp. Sel hasil penyegaran selanjutnya digunakan untuk kultivasi. Kultivasi dilakukan secara bertahap pada jumlah medium yang berbeda. Kultivasi pertama dilakukan pada volume kultur 1 liter dengan menggunakan medium F dan medium pupuk (urea dan TSP). Tahap ini bertujuan untuk memberikan waktu adaptasi bagi sel terhadap lingkungan, terutama yang menggunakan medium pupuk. Tujuh hari kemudian, kultivasi diperbesar volumenya hingga 2 dan



Gambar 3. Skema proses ekstraksi senyawa Antibakteri intraseluler *Chlorella sp*

6 liter dengan media yang sama seperti tahap sebelumnya. Pada tahap ini dilakukan penghitungan jumlah sel dan pengukuran nilai OD (*optical density*) dari kultur 2 liter untuk menentukan kurva pertumbuhan sel *Chlorella sp*. Kultur dengan volume 6 liter digunakan untuk produksi antibakteri.

Suhu selama kultivasi sel *Chlorella sp*. adalah suhu ruang berkisar antara 27-29°C. Kondisi suhu tersebut merupakan kisaran suhu yang baik untuk pertumbuhan mikroalga termasuk *Chlorella sp*, karena untuk pertumbuhan mikroalga yang optimal digunakan suhu yang berkisar antara 15-30°C (De La Noue dan De Pauw, 1988).

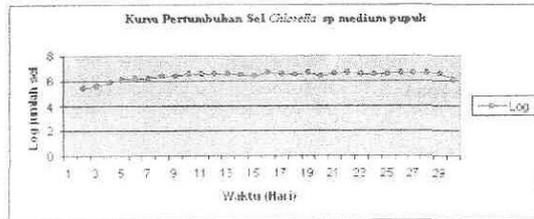
Selain nutrisi, suhu, dan pengadukan yang menjadi parameter pertumbuhan, intensitas cahaya dan lamanya penyinaran juga akan menentukan tingkat pertumbuhan (Richmond, 1988). Penyinaran kultur mikroalga *Chlorella sp*. dengan menggunakan

lampu neon bertujuan untuk memenuhi kebutuhan cahaya bagi pertumbuhan sel *Chlorella sp*. Cahaya merupakan faktor penting untuk kegiatan kultivasi mikroalga, karena keberadaan cahaya sangat diperlukan oleh sel mikroalga sebagai sumber energi dalam proses fotosintesis. Penyinaran dengan lampu neon dimaksudkan untuk memberikan cahaya yang konstan dan terus menerus pada sel mikroalga dalam melakukan fotosintesis. *Chlorella sp*. membutuhkan cahaya untuk proses fotosintesis. Apabila kekurangan cahaya, maka proses fotosintesis tidak dapat berlangsung normal.

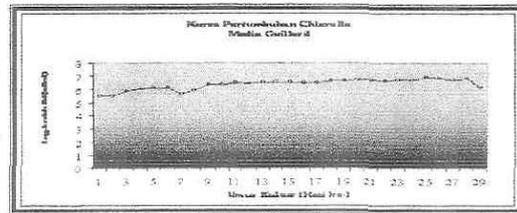
Fase log dimulai antara hari ke-3 sampai dengan hari ke-12. Pada fase ini, nutrisi dimanfaatkan secara optimal oleh sel untuk pertumbuhannya. Pada fase ini terlihat perkembangan sel yang cukup jelas berdasarkan warna medium kultivasi yang semakin lama semakin pekat warna hijaunya.

Fase stasioner dimulai pada hari ke-13 dan berlangsung terus hingga hari ke-26. Fase stasioner menunjukkan bahwa nutrisi pada medium sudah mengalami penurunan sehingga sel mulai terbatas dalam

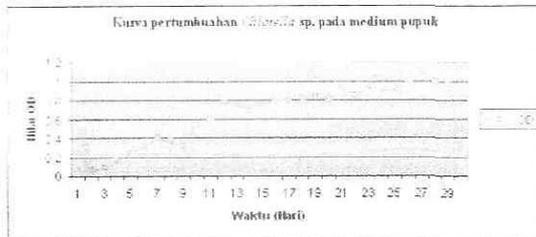
mendapatkan nutrisinya. Pada fase inilah biasanya sel mikroalga akan membentuk senyawa/metabolit sekunder untuk menunjang kelangsungan hidupnya.



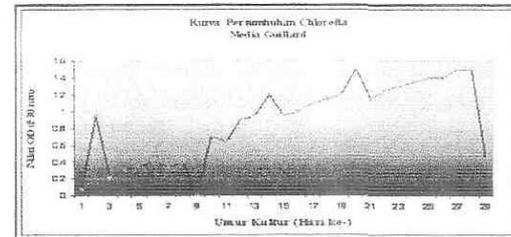
Gambar 4. Kurva pertumbuhan sel *Chlorella* sp. pada medium pupuk



Gambar 5. Kurva pertumbuhan sel *Chlorella* sp. pada medium Guillard



Gambar 6. Kurva pertumbuhan sel *Chlorella* sp. pada medium pupuk berdasarkan nilai OD (Optical density)



Gambar 7. Kurva pertumbuhan sel *Chlorella* sp. pada medium pupuk berdasarkan nilai OD (Optical density)

Fase penurunan laju pertumbuhan berlangsung mulai hari ke-27. Hal ini diduga disebabkan oleh persediaan nutrisi yang sudah semakin terbatas serta kemungkinan disekresikannya senyawa ekstraseluler autoinhibitor yang merupakan metabolit sekunder dimana kondisi ini selain nutrisi yang mempengaruhi, juga dipengaruhi oleh perubahan pH dan intensitas cahaya lingkungan. Mikroalga dapat memanfaatkan substrat organik seperti gula dan asam-asam organik sebagai sumber karbon untuk mempertahankan pertumbuhannya (Fogg, 1975).

3.2. Ekstraksi Senyawa Antibakteri *Chlorella* sp.

Ekstraksi adalah suatu cara untuk memisahkan campuran beberapa zat menjadi komponen yang terpisah dalam pelarutnya (Winarno *et al.*, 1973). Pada penelitian ini, ekstraksi senyawa antibakteri hanya dilakukan pada sel *Chlorella* sp untuk memisahkan ekstrak intraselulernya dan ekstraksi

dilakukan dengan menggunakan pelarut organik metanol.

Pemanenan kultur *Chlorella* sp dilakukan pada hari ke-10. Pemanenan untuk produksi atau ekstraksi antibakteri biasanya dilakukan pada fase stasioner. Dimana pada fase tersebut jumlah nutrisi sudah berkurang dan sel bisa memproduksi metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan diri dari lingkungan yang kurang menguntungkan baginya, salah satunya adalah antibakteri.

Hasil panen dari kultur *Chlorella* sp yang mempunyai volume kultur sekitar 6 liter menghasilkan biomassa sebesar 1,42 g. Biomasa sel (ekstrak intraseluler) *Chlorella* sp diperoleh dengan cara filtrasi membran dan sentrifuse pada kecepatan 6000 rpm selama 25 menit untuk memisahkan biomassa dan supernatannya lalu dilakukan *freeze drying*. Teknik pemisahan dengan sentrifuse merupakan salah satu cara yang efisien karena dapat memisahkan supernatan dan biomassa dengan lebih sempurna dalam waktu yang relatif singkat (Vonshak, 1990). Selain itu dilakukan pula *freeze drying* terhadap medium

untuk mendapatkan ekstrak ekstraseluler yang juga akan diujikan aktivitas antibakterinya.

Selanjutnya ekstrak intraseluler/ biomassa sel yang diperoleh ditambahkan pelarut metanol sebanyak 5 ml untuk dilakukannya sonikasi atau pemecahan sel dengan *sonicator* selama 10 menit. Sonikasi dimaksudkan untuk untuk memecahkan dinding sel *Chlorella* sp, sehingga komponen antimikroba yang diinginkan akan keluar dan komponen tersebut terikat serta larut dalam pelarut organik metanol.

Biomassa hasil dari sonikasi selanjutnya diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1 gr biomassa : 25 ml pelarut metanol. Penggunaan pelarut organik metanol ini bertujuan untuk mengikat komponen yang dihasilkan oleh *Chlorella* sp. Kemudian dilakukan maserasi selama 24 jam, yaitu dengan dilakukannya perendaman biomassa dalam pelarut metanol dan pengadukan dengan pengaduk magnet *magnetic stirrer*. Maserasi dilakukan 3x24 jam dengan penggantian pelarut tiap 24 jam sekali untuk memperoleh rendemen senyawa antibakteri yang lebih besar. Hal yang sama juga dilakukan terhadap ekstrak ekstraseluler.

3.3. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri *Chlorella* sp.

Uji aktivitas senyawa antibakteri bertujuan untuk melihat ada tidaknya aktivitas antibakteri pada ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp. Uji dilakukan dengan melarutkan 0.0301 g ekstrak dalam 1 ml pelarut metanol dan digunakan 20 µl dalam setiap *paper disc*. Sehingga didapat konsentrasi ekstrak pada *paper disc* 300 µg/ml. Sedangkan untuk kontrolnya dilakukan dengan melarutkan 0.015 g kloramfenikol dalam 0,5 ml metanol dan digunakan 20 µl dalam setiap *paper disc*. Sehingga di dapat konsentrasi kloramfenikol pada *paper disc* 10 µg/ml.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap lima bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophyla* dan *Vibrio harveyi*. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri, ekstrak kasar intraseluler maupun ekstraseluler *Chlorella* sp dapat menghambat semua pertumbuhan kelima bakteri yang diujikan yang terdiri dari bakteri Gram negatif

dan Gram positif. Aktivitas antibakteri ini ditandai dengan terbentuknya zona bening/hambat disekitar *paper disc* yang ditambahkan ekstrak pada media agar yang ditumbuhkan bakteri. Diameter hambatan ekstrak dan kloramfenikol yang terbentuk pada bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 1. zona hambatnya dapat dilihat pada Gambar 8.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Pada Bakteri Uji

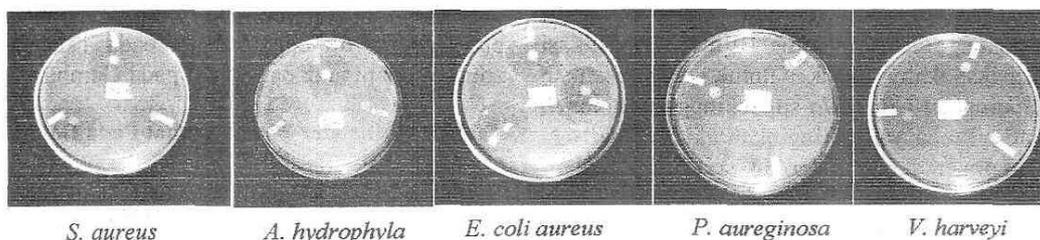
No	Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (cm)		
		A	B	K
Medium pupuk				
1	<i>E. coli</i>	2,7	2	2,3
2	<i>S. aureus</i>	2,6	3	3,3
3	<i>A. hydrophyla</i>	2,8	2,9	3,6
4	<i>P. aeruginosa</i>	1,3	1,6	2,6
5	<i>V. harveyi</i>	3,5	3,6	3,9
Medium Guillard				
1	<i>E. coli</i>	1,3	2,4	2,6
2	<i>S. aureus</i>	2,7	2,3	1,3
3	<i>A. hydrophyla</i>	2,9	2,4	2,4
4	<i>P. aeruginosa</i>	1,9	0,3	0,9
5	<i>V. harveyi</i>	3,4	1,9	2,1

Ket : A= Konsentrasi 2x, B= Konsentrasi 3x, dan K= Kontrol (Kloramfenikol)

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp menunjukkan bahwa ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio harveyi*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya diameter hambat atau zona bening disekitar *paper disc* pada media agar. Dengan demikian ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan Gram negatif. Kemungkinan hal ini disebabkan karena bakteri-bakteri tersebut tidak resisten terhadap antibiotik kloramfenikol yang terdapat pada ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp. Alasan ini dibuktikan dengan terbentuknya zona bening atau diameter hambat disekitar *paper disc* yang telah diteteskan antibiotik kloramfenikol. Penggunaan medium yang

berbeda (*Guillard* dan pupuk) ternyata menghasilkan penghambatan/zona bening yang tidak terlalu berbeda. Hal ini membuktikan bahwa pupuk (urea dan

TSP) dapat juga digunakan sebagai media kultur untuk produksi antibakteri pada *Chlorella* sp.



Gambar 8. Diameter Hambatan Ekstrak Kasar Intraseluler *Chlorella* sp pada Bakteri Uji

IV. PENUTUP

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pupuk (urea dan TSP) dapat digunakan sebagai medium pertumbuhan *Chlorella* sp. dan produksi antibakteri dari *Chlorella* sp. yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

S. aureus, *V. harveyi*, *A. hydrophyla*, *P. aureginosa* dan *E. coli*. Meskipun *yield* yang dihasilkan lebih sedikit dari kultur dengan medium *Guillard*, namun besar zona hambat yang terbentuk memiliki diameter yang tidak jauh berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- De La Noue, J., De Pauw, N. 1988. The Potential of microalgae biotechnology. A review of production and uses of microalgae. *Journal of Biotechnology Advances*. 6. hlm.
- Fogg, G.E. 1975. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology*, Edisi kedua. The University of Wisconsin Press. Madison. London.
- Metting, B dan Pyne, J.W. 1986. Biologically Active Compound From microalgal *Journal of Enzym Microb. Technology*. Vol 8. Butterworth and Co. Published.
- Richmond, A.E. 1986. *Microalgae culture*. CRC Press. Boca raton. Ann Arbor-London-Tokyo.
- Steenblock, D. 1995. *Makanan Sehat Alami*. PT. Centranusa Insan Cemerlang dan PT. Gramedia, Jakarta.
- Trianti, R. 1998. Ekstraksi dan uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Chlorella* sp. *Skripsi*. Program studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. Bogor.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina platensis (Arthrospira) : Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*. Taylor and Francis.
- Winarno, F.G, D. Fardiaz dan S. Fardiaz. 1973. *Ekstraksi, Kromatografi dan Elektroforesis*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.