Buletin THP No. 1 Volume VI Tahun 1999

EKSTRAKSI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIBAKTERI DARI MIKROALGA *Chlorella sp*

Oleh :

Iriani Setyaningsih[1], Linawati[2], Rina Trianti[3] dan Bustami Ibrahim[4],

Abstrak

Mikro alga jenis *Chlorella* sp, selain digunakan sebagai pakan alami, juga dapat menghasilkan senyawa aktif antibakteri. Ekstraksi antibakteri dilakukan pada tiap fase pertumbuhan.

Clhorella sp dan uji aktivitrasnya dilakukan terhadap bakteri gram positif *(Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*) serta bakteri gram negatif (*Eschorichia coli* dan *Pseudomonas*)

Kultivasi *Chlorella* sp dilakukan sampai 85 hari. Ekstrak dari ekstraseluler dan dari biomasa pada fase stasioner dapat menghambat *pertumbuhan S. aureus, B. Subtilis, E. Coli* dan *Pseudomonas*. *Chlorella* sp mempunyai 5 fase dalam pertumbuhannya, dan produksi senyawa antibakteri sudah terbentuk pada fase log.

Pendahuluan

Mikroalga merupakan mata rantai awal dalam suatu ekosistem perairan yang menghasilkan energi. Salah satu jenis mikroalga yang mempunyai nilai komersial adalah *Chlorella* sp, akan tetapi pemanfaatannya masih terbatas di bidang akuakultur, yaitu sebagai pakan alami seperti pakan larva udang, moluska dan zooplankton air tawar seperti rotifer, copepoda dan artemia.

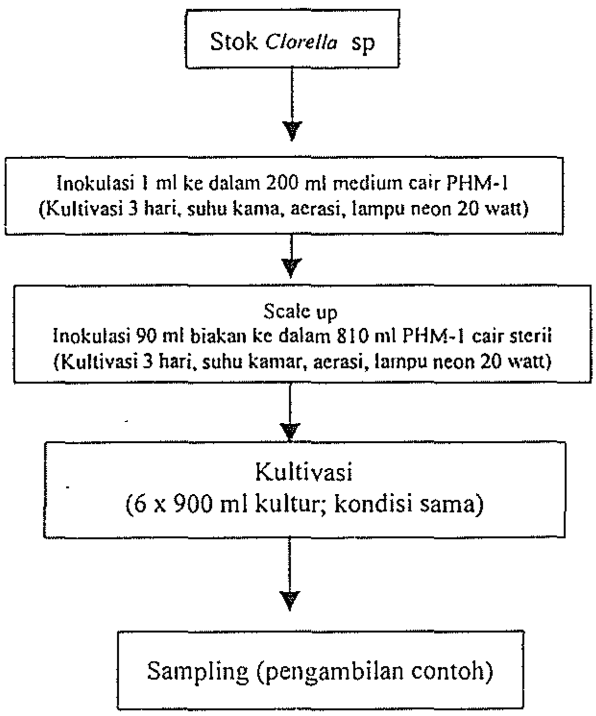
Selain sebagai pakan alami, *Chlorella* sp juga menghasilkan komponen bioaktif yang dapat berupa antibiotik, algisidae, toksin, bahan aktif untuk industri farmasi dan pemacu pertumbuhan (Pyne and Meeting, 1986). Ekstrak sel dan ekstrak media tumbuh *Chlorella* vulgaris dilaporkan memberikan aktivitas anti bakteri pada bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Aubert, Aubert and Gauthier, 1979; Reichelt and Borowitzka, 1984 yang dikutip Pyne and Meeting, 1986). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kurva pertumbuhan *Chlorella* sp, mengekstrak senyawa anti bakteri pada setiap fase pertumbuhan dan menguji aktivitasnya pada bakteri gram positif dan gram negatif.

Metodologi

Mikroalga yang digunakan adalah *Chlorella* sp. Penelitian yang dilakukan meliputi tahap kultivasi *Chlorella* sp, ekstraksi dan uji aktivitas senyawa antibakteri yang dihasilkan terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan *Pseudomonas* sp.

1. Kultivasi *Chlorella* sp

Kultivasi *Chlorella* sp dilakukan dengan menggunakan medium PHM-1 dalam erlenmeyer berukuran 1 lt yang dilengkapi oleh system aerasi dan pengambilan sampel, dan aerator sebagai sumber cahaya digunakan lampu neon 20 watt. Skema proses kuitur *Chlorella* sp dapat dilihat pada Gambar 1. Selama kultivasi, sampling dan penghitungan jumlah sel dilakukan setiap hari dengan menggunakan mikroskup. Hasil penghitungan dibuat kurva pertumbuhan dengan umur kultur (hari) sebagai sumbu x dan log jumlah sel / ml sebagai sumbu y.



Gambar 1. Skema Proses Kultur Chlorella sp

[1] *Staf Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor.*
[2] *Staf Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor.*
[3] *Alumnus Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.*
[4] *Staf Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan,*

2. Ekstraksi Senyawa Antibakteri *Chlorella* sp

Ekstraksi senyawa antibakteri dilakukan sebanyak 7 kali yang mewakili 5 fase pertumbuhan yaitu fase lag pada saat kultur berumur 1 hari, fase log saat kultur berumur 8 hari, penurunan laju pertumbuhan saat kultur berumur 19 hari, tengah stasioner saat kultur berumur 50 hari, akhir stasioner saat kultur berumur 75 hari dan fase kematian saat kultur berumur 85 hari. Ekstraksi senyawa antibakteri dari biomasa *Chlorella* sp dilakukan dengan modifikasi metode Quinn (1988) dan ekstraksi senyawa antibakteri ekstraseluler dilakukan dengan modifikasi metode Pratt (1945) yang dapat dilihat pada Gambar 2.

3. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri *Chlorella* sp

Ekstrak ekstraseluler dan biomasa yang dihasilkan diuji aktivitasnya pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta bakteri gram negatif *Pseudomonas sp* dan *Escherichia coli*. Uji aktivitas ekstrak tersebut dilakukan dengan modifikasi metode CDS (Bell, 1984).

Hasil dan Pembahasan

1. Kultivasi *Chlorella* sp

Pada penelitian ini, kultivasi *Chlorella* sp berlangsung selama 85 hari dengan kepadatan berkisar antara 4,75 x 10^5 sampai 6,2 x 10^7 sel/ml dan pH kultur berkisar antara 7 sampai 9,74.

Chlorella sp yang dikultivasi dalam medium PHM-1 memiliki 5 fase pertumbuhan. Pada penelitian ini, fase log berlangsung hanya 1 hari yaitu hari ke-0 sampai ke-1. Kepadatan sel pada fase ini relatif tetap yaitu 4,75 x 10^5 sel/ml yang berarti jumlah sel dalam kultur tidak mengalami peningkatan.

Fase log merupakan fase pertumbuhan kedua. Pada kurva ditunjukkan dengan bentuk kurva logaritmik. Pada fase ini terjadi pertumbuhan jumlah sel *Chlorella* sp dengan cepat yang berlangsung selama 12 hari yaitu dari hari ke-1 sampai ke-13. Kepadatan sel meningkat antara 4.75 x 10^5 sampai 2,4 x 10^7 sel/ml.

Kisaran kepadatan tersebut cukup besar yang menunjukkan bahwa pada fase log, sel *Chlorella* sp memiliki kemampuan melakukan pembelahan sel secara aktif dengan kecepatan yang maksimum dan konstan. Hal ini didukung oleh ketersediaan nutrien dan kondisi lingkungan yang baik sehingga pertumbuhan *Chlorella* sp ini cukup optimal.

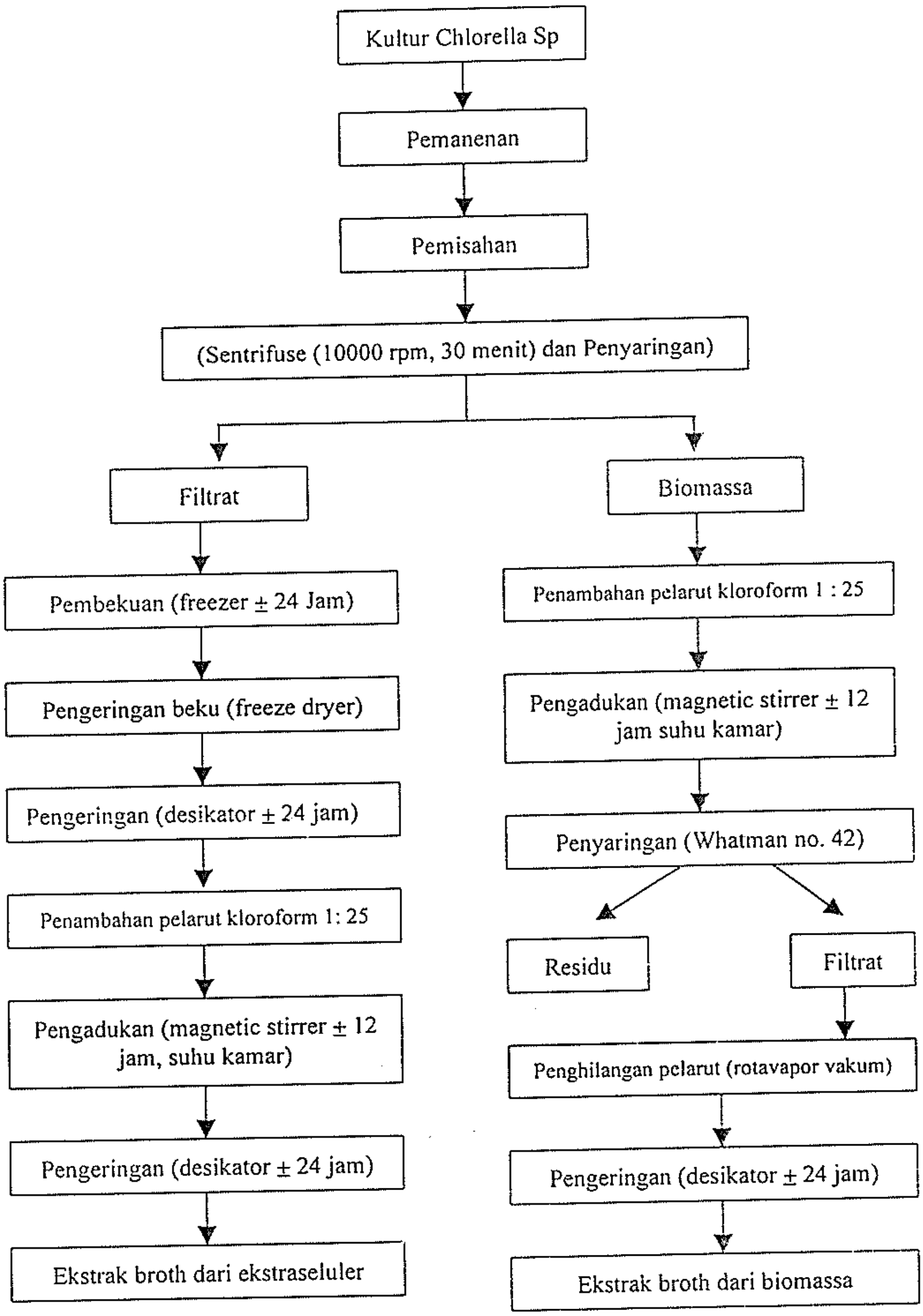
Fase yang ketiga adalah fase penurunan laju pertumbuhan yang berlangsung selama 5 hari yaitu dari hari ke – 13 sampai ke – 18 dengan kenaikan kepadatan sel berkisar antara 2,4 x 10^7 sampai 3,4 x 10^7 sel/ml. Hal ini berarti pertambahan jumlah sel *Chlorella* sp ini lebih sedikit dan lambat dari pada peningkatan jumlah sel pada fase log. Hal ini diduga karena pengaruh substansi yang dihasilkannya.

Mikroalga dapat menghasilkan sunstansi toksik bagi mikroalga itu sendiri. Substansi oksik ini disebut " autoinhibitor " yang diakumulasi dalam medium pertumbuhan sehingga berakibat pertumbuhannya menjadi stasioner (Fogg, 1975).

Fase yang keempat adalah fase stasioner yang dimulai pada umur 19 hari . Fase ini berlangsung selama 46 hari dan berakhir pada saat kultur berumur 75 hari. Pada fase ini jumlah sel dalam kultur masih mengalami peningkatan yang sangat lambat, yaitu berkisar antara 3,4 x 10^7 sampai 6,2 x 10^7 sel/ml. Hal ini menunjukkan bahwa *Chlorella* sp masih melakukan pembelahan sel, tetapi sangat lambat, sehingga dapat dikatakan relatif sama.

Lamanya fase stasioner tersebut diduga sel masih dapat memanfaatkan nutrien dalam medium walaupun kadarnya sudah berkurang dan sel memiliki cadangan energi yang besar sehingga sel masih dapat menggunakan komponen tersebut untuk melakukan pertumbuhan dan mempertahankannya walaupun kecepatannya sangat rendah. Fogg (1975) menyatakan bahwa mikroalga dapat memanfaatkan substrat organik seperti gula dan asam-asam organik sebagai sumber karbon untuk mempertahankan pertumbuhannya.

Fase yang kelima adalah fase kematian yang ditunjukkan dengan kurva yang menurun. Fase ini terjadi pada saat kultur berumur 76 hari dengan jumlah sel 4,65 x 10^7 sel/ml. Artinya, nutrien dalam medium telah habis dan sel tidak dapat mendukung dirinya sendiri. Kultur *Chlorella* sp yang memasuki fase kematian ditandai oleh penampakan kultur yang mulai menguning.



Gambar 2. Skema ekstraksi Senyawa antibakteri *Chlorella* sp.

2. Ekstraksi Senyawa Antibakteri *Chlorella* sp

Hasil ekstraksi biomasa *Chlorella* sp diperoleh persentase ekstrak broth biomasa pada fase log 0,6 %, fase penurunan laju pertumbuhan 0,8%, fase awal stasioner 1,1%, fase tengah stasioner 1,3 %, fase akhir stasioner 0,8% dan fase kematian 0,7%. Sedangkan ekstrak broth ekstraseluler yang dihasilkan sebanyak 40 ml filtrat pada fase lag sebesar 0,1%, fase log sebesar 0,1%, fase penurunan laju pertumbuhan sebesar 0,11%, fase awal stasioner sebesar 0,11%, fase tengah stasioner sebesar 0,12%, fase akhir stasioner sebesar 0,1 % dan fase kematian sebesar 0,09%.

Konsentrasi ekstrak ekstraseluler yang mewakili 5 fase pertumbuhan *Chlorella* sp yang digunakan untuk menguji aktivitasnya adalah 50% (b/v) dengan jumlah yang diteteskan 20 µl per paper disc. Sedangkan konsentrasi ekstrak broth biomasa yang digunakan untuk mewakili fase log adalah sebesar 2 % (b/v), fase penurunan laju pertumbuhan sebesar 4,2% (b/v), fase stasioner dan fase kematian sebesar 16,4% dengan jumlah yang diteteskan 10µl per paper disc. Pengujian ekstrak broth biomasa pada fase log tidak dilakukan karena biomassa pada fase tersebut jumlahnya sangat sedikit sehingga belum dapat diekstrak.

3. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri *Chlorella* sp

Ekstrak broth dari biomasa dan ekstraseluler yang diduga mengandung senyawa antibakteri, diujicobakan pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta bakteri gram negatif *Pseudomonas sp* dan *E. coli*. Aktivitas senyawa antibakteri diukur berdasarkan adanya pembentukan daerah bening disekeliling paper disc yang bermuatan ekstrak. Nilai diameter daerah benihg sebagai zona penghambatan menunjukkan tingkat aktivitas senyawa anti bakteri. Sebagai kontrol positif digunakan streptomycin dengan konsentrasi 10 ul/ml dengan jumlah yang diteteskan adalah 10 ul per paper disc. Sedangkan sebagai kontrol negatif digunakan akuades steril dengan jumlah yang diteteskan adalah 10 ul per paper disc.

Hasil uji aktivitas ekstrak ekstraseluler yang dihasilkan pada fase lag tidak menghambat pada pertumbuhan S. aureus, B.subtilis, Pseudomonas sp dan *E. coli*. Ekstrak ekstraseluler yang dihasilkan pada fase log dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *Pseudomonas sp* tetapi tidak menghambat pertumbuhan B. subtilis dan *E.coli*, sedangkan ekstrak dari biomasa dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *B. subtilis* dan *Pseudomonas* sp tetapi tidak menghambat pertumbuhan *E. coli*.

Hasil uji aktivitas ekstrak ekstraseluler dan dari biomasa yang dihasilkan pada fase penurunan laju pertumbuhan dan awal stasioner dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*, *Pseudomonas* sp *dan B. subtilis*, tetapi tidak menghambat pertumbuhan *E. coli*. Ekstrak ekstraseluler dan dari biomasa pada fase tengah stasioner dan akhir stasioner dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *B. subtilis*, dan *S. aureus*. Sedangkan *Pseudomonas* sp dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak ekstraseluler tetapi tidak dapat dihambat oleh ekstrak dari biomasa. Ekstrak senyawa antibakteri yang dihasilkan pada fase kematian masih dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *B. subtilis* tetapi tidak menghambat pertumbuhan *Pseudomonas* sp *dan E. coli*.

Kesimpulan dan Saran

Produksi senyawa antibakteri oleh *Chlorella* sp sudah berlangsung pada fase log yaitu pada umur kultur 8 hari. Aktivitas ekstrak senyawa antibakteri yang terbaik adalah ekstrak yang dihasilkan pada fase stasioner. Penelitian lanjutan yang dapat dilakukan diantaranya optimasi ekstrak senyawa antibakteri yang memberikan rendemen lebih besar, uji toksistas dan aplikasi pada bahan pangan ikani untuk mereduksi mikroba kontaminan.

Daftar pustaka

Borowitzka, M. and Borowitzka, L. 1988. Micro-algal Biotechnology. Cambridge University Press. Mew York.

Fogg, G.E. 1975. Algal Cultrue and Phytoplankton Ecology. The University of Wisconsin Press. London

Pyne, J.W. and metting, B. 1986. Bio;logically Active Compounds From Microalgal Journal of Enzyme Microb. Technology. Vol 8. Butterwort and Co. Published.

Pratt, John F, Oneto and Jane Pratt. 1945. Studies on *Chlorella* vulgaris X. Influence of The Age of The Culture on The Accumulation of Chlorellin. Am. Jour. Bot. Vol 32.

Quinn, R.J. 1988. Chemistry of Aqueous Marine Extracts : Isalation Techniques in Bioorganic Marine Chemistry, Vol. 2 Springerverlag Berlin Heidelberg (1988).