

IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA AKTIF SECARA MASERASI DAN DIGESTI DALAM BERBAGAI PELARUT DARI MIKROALGA *Dunaliella salina*

Ni Wayan Sri Agustini¹, Kusmiati²

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong
Jl. Raya Bogor Km.46 Cibinong, Bogor 16911
Email: wayan_2002@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan uji aktivitas antibakteri dan identifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam mikroalga *Dunaliella salina*. Sebanyak 20 g biomasa kering *Dunaliella salina* masing-masing diekstraksi menggunakan pelarut petroleum eter, aseton, dan etanol dengan cara maserasi dan digesti. Uji aktivitas antibakteri menggunakan difusi cara cakram dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sedangkan identifikasi senyawa aktif menggunakan KG-SM (Kromatografi Gas-Spektrometer Massa). Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa, semua ekstrak *Dunaliella salina* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji dan zona terbesar ditunjukkan pada ekstrak etanol, baik secara maserasi maupun digesti. Hasil identifikasi dengan KG-SM menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol adalah Asam Heksadekanoat, Asam. 9,12- oktadekadienoat, Asam. 9,12-metil ester oktadekadienoat, Neophytadiena, Phytol, dan Asam. 8,11-metil ester oktadekadienoat.

Kata Kunci: *Dunaliella salina*, maserasi, digesti, antibakteri, identifikasi

PENDAHULUAN

Tingginya keanekaragaman hayati laut memiliki potensi sumberdaya laut dan selayaknya dapat dimanfaatkan secara optimal, baik berpotensi dalam bidang lingkungan, ekonomi, maupun kesehatan khususnya dalam bidang farmasi. Salah satu keanekaragaman hayati potensial adalah mikroalga. Saat ini, mikroalga telah menjadi alternatif untuk dikembangkan karena memiliki potensi yang besar, terutama dalam bidang farmasi karena beberapa jenis mikroalga memiliki kandungan senyawa utama seperti protein, karbohidrat dan lemak. Selain itu mikroalga juga memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti asam lemak dan pigmen yang dapat digunakan sebagai senyawa bioaktif dalam bidang farmasi untuk antiinflamasi, antivirus, antikanker, antifungi, dan antimikroba (Borowitzka M.A.,1994)

Senyawa antimikroba dari mikroalga umumnya belum teridentifikasi, namun beberapa telah diketahui komponen penyusunnya, ada yang terdiri dari asam lemak, fenol, dan asam organik. Hasil penelitian melaporkan beberapa mikroalga yang memiliki potensi sebagai antimikroba antara lain *Pophyridium cruentum*, *Lyngbya sp*, *Spirulina platensis*, *Phormidium sp* dan *Chlorella sp*. Sedangkan dari jenis *Dunaliella* yang diketahui memiliki potensi antimikroba antara lain *Dunaliella primolecta* dengan kandungan senyawa asam gama-linoenat, *Dunaliella bardawil* dengan kandungan senyawa metabolisme karoten seperti neophytadiene dan beta-ionone serta *Dunaliella salina* dengan kandungan senyawa asam linoleat dan asam palmitat (Weldy C.S dan Huesemann M., 2007)

Antimikroba pada mikroalga dapat diekstraksi dari biomassa atau ekstraselulernya. Beberapa metode ekstraksi telah dilakukan untuk mendapatkan senyawa antimikroba dari *Dunaliella salina*, salah satunya adalah metode Naviner et.al (1999). Ekstraksi dengan metode ini dilakukan secara bertingkat dengan beberapa pelarut seperti metanol, n-heksana dan diklorometan dan hasilnya menunjukkan adanya zona hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan komponen senyawa fenol dan asam 1,2-dikarboksilat.

Pada penelitian ini, proses ekstraksi biomasa *Dunaliella salina* dilakukan dengan cara yang lebih sederhana yaitu dengan cara maserasi dan digesti menggunakan pelarut petroleum eter, aseton, dan etanol. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui cara lain untuk ekstraksi senyawa antimikroba dari mikroalga *Dunaliella salina* dan juga untuk mengetahui kandungan senyawa antimikroba dari mikroalga *Dunaliella salina* yang diekstraksi dengan pelarut petroleum eter, aseton, dan etanol.

METODE PENELITIAN

BAHAN

Mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Dunaliella salina*, sedangkan bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Semua mikroba tersebut merupakan koleksi milik Laboratorium Mikroalga Air Tawar, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong



CARA KERJA

1. Kultivasi *Dunaliella salina*

Dunaliella salina dikultivasi dalam media Johnson yang terdiri dari (per liter): 27 g Natrium klorida; 0,5 g Magnesium sulfat; 1,5 g Magnesium klorida; 0,2 g Kalsium klorida; 1 g Kalium nitrat; 0,035 g Kalium dihidrogen fosfat; 0,043 g Natrium bikarbonat ; 0,2 g Kalium klorida. Elemen mikro terdiri dari Mangan klorida tetrahidrat 40 mg; Asam borat 60 mg; Kobalt klorida 1,5 mg; Ammonium molibdat 37 mg; Seng klorida 4 mg; Kupri klorida 4 mg; Air suling ad 100 ml serta larutan Fe-EDTA. Kultivasi dilakukan pada botol ukuran 2 liter, dengan intensitas cahaya 2500 lux, pH 7,2 dan sistem aerasi secara terus menerus. Kepadatan awal sel dengan nilai serapan (*Optical Density*) $\pm 0,5$ yang diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 680 nm.

2. Pengukuran Kepadatan Sel *Dunaliella salina* dengan Metode Turbidimetri

Kepadatan sel *Dunaliella salina* diukur setiap hari. Sebanyak 5,0 ml sampel diukur kepadatan selnya (*Optical density*) dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 680 nm. Kurva dibuat dengan cara memplotkan antara waktu inkubasi dengan nilai serapan (absorbansi).

3. Ekstraksi Senyawa Antibakteri *Dunaliella salina*

Proses ekstraksi yang dilakukan adalah dengan cara maserasi dan digesti dengan pelarut petroleum eter, aseton, dan etanol. Adapun tahapan proses ekstraksi yang dilakukan adalah sebagai berikut

- a. **Maserasi:** Biomassa ditimbang masing-masing 1,5 gr untuk setiap pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu etanol, aseton dan petroleum eter dengan perbandingan 1:10 (g/mL). Setelah itu biomassa dipecahkan selnya dengan sonifier selama 4 menit dengan kekuatan 40 Hertz, dan suspensi biomassa *D. salina* dimaserasi selama 24 jam sambil dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm.
- b. **Digesti:** Biomassa ditimbang masing-masing 1,5 gr untuk setiap pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu etanol, aseton dan petroleum eter dengan perbandingan 1:10 (g/mL). Biomassa dipecahkan selnya dengan sonifier selama 4 menit dengan kekuatan 40 Hertz, setelah itu suspensi biomassa *D.salina* di digesti selama 24 jam menggunakan penangas air pada suhu 50°C.

Proses maserasi dan digesti ini dilakukan sampai biomassa terlihat pucat. Pemisahan antara biomassa dan supernatan dengan cara disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Filtrat hasil sentrifus ditampung dan dikumpulkan kemudian dievaporasi menggunakan vakum rotavapor dengan suhu 40°C hingga filtrat mengental.

4. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Dunaliella salina*

a. Pembuatan Media dan Peremajaan Bakteri

Media regenerasi yang digunakan adalah media padat Nutrien Agar (NA) dengan komposisi : Pepton 0,5%, ekstrak ragi 0,3%, dan bakto agar 1,5 % yang dilarutkan dalam akuades dan dipanaskan hingga larut sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 ml dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang telah steril dimiringkan dan didiamkan hingga memadat. Bakteri diremajakan kembali dengan cara memindahkan koloni dengan menggunakan ose ke dalam tabung reaksi yang berisi Nutrien Agar steril. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan disimpan pada suhu kamar sebagai stok biakan.

b. Persiapan Media Prakultur Bakteri

Media pertumbuhan yang digunakan adalah media cair Nutrient Broth (NB) dengan komposisi : pepton 0,5% dan ekstrak ragi 0,3% yang dilarutkan dalam 25 ml air suling dan dipanaskan hingga larut sempurna, dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Kultur bakteri hasil peremajaan diambil menggunakan ose, lalu dimasukkan ke dalam tabung yang berisi media nutrien cair dan kemudian dikocok menggunakan *shaker* dan diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Kekeruhan yang terjadi diamati berdasarkan *Optical Density* (OD $\pm 1,0$) bakteri dengan menggunakan Spectronic pada panjang gelombang 550 nm.



c. Penyiapan Media Agar 2 Lapis

1. Media agar padat (*base layer*)

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media agar padat untuk lapisan bawah terdiri dari 0,3% ekstrak ragi (*yeast extract*), 0,5% pepton dan 1,5% bakto agar. Semua bahan dilarutkan dalam akuades dan dipanaskan hingga melarut sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 7,5 ml dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah steril, langsung dituang ke dalam cawan petri yang sudah steril, pengerjaan secara aseptik dilakukan dalam *laminar air flow*. Diamkan hingga membeku dan disimpan pada suhu kamar.

2. Media perbenihan (*seed layer*)

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media agar lunak untuk lapisan atas terdiri dari 0,3% ekstrak ragi (*yeast extract*), 0,5% pepton dan 0,75% bakto agar. Semua bahan dilarutkan dalam akuades dan dipanaskan hingga melarut sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 7,5 ml dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah agar lunak agak dingin antara suhu 35-40°C, masukkan suspensi bakteri sebanyak 16 µl untuk *E. coli* dan 8 µl untuk *S.aureus* dan tuang di atas media agar padat yang sudah membeku.

3. Larutan Uji

Ekstrak *Dunaliella salina* dalam petroleum eter, aseton, dan etanol dikentalkan dengan vakum rotavapor. Konsentrasi larutan ekstrak mikroalga yang diuji yaitu 100%, 75% dan 50 %.

d. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar menggunakan cakram. Agar lunak dalam cawan petri yang telah membeku, diletakkan cakram sebanyak 3 buah dengan diameter 7,0 mm. Kemudian masing-masing cakram tersebut diteteskan 20 µl larutan ekstrak mikroalga dengan konsentrasi 100%, 75% dan 50%. Selanjutnya diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Percobaan dilakukan 2 kali pengulangan.

e. Analisis Senyawa Ekstrak Kultur *Dunaliella salina* yang Berpotensi Antibakteri dengan Menggunakan KG-SM (Kromatografi Gas-Spektrometer Massa)

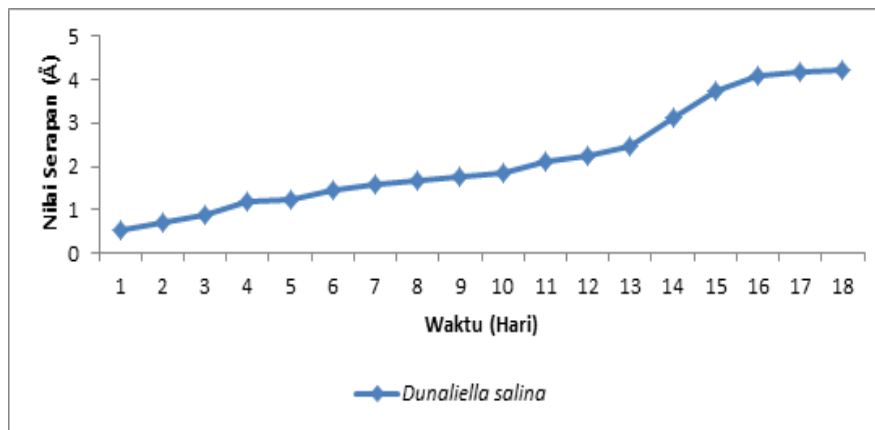
Kondisi alat KG-SM yang digunakan adalah: kolom: HP-5, Oven: Injektor (270°C), Laju alir (1 ml/menit), Temperatur: 60-290°C ditahan selama 15 menit kenaikan suhu 15°C/menit, Detektor: AUX interface 280, Gas pengelusi yang digunakan adalah Helium. Ekstrak *Dunaliella salina* dilarutkan dengan etanol. Sampel diambil dengan menggunakan KG inlet sebanyak 3 µl yang telah dibilas dengan pelarut etanol. Kemudian diinjek ke dalam kromatografi gas yang telah diatur kondisinya. Sampel ini akan melewati kolom masuk ke dalam spektrometri massa, dianalisis dan keluar menuju detektor dengan menghasilkan puncak kromatogram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Dunaliella salina*

Pengamatan pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan sel *Dunaliella salina* selama penelitian. Berdasarkan hasil pengamatan, ternyata sel tidak mengalami fase adaptasi, hal ini dikarenakan tidak adanya modifikasi media kultur yang digunakan dan saat dilakukan kultivasi stok kultur berada pada kondisi fase logaritmik, sehingga sel-sel yang diinokulasikan cepat beradaptasi terhadap media kultur yang baru. Pertumbuhan sel diamati setiap hari hingga mencapai fase stasioner, yaitu hari ke- 16-18. Setelah kultur mencapai fase stasioner, dilakukan pemanenan dengan cara disentrifus, endapan yang diperoleh, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C agar kandungan nutrisi yang terdapat dalam biomassa tidak rusak. Proses pemanenan dilakukan saat sel pada fase stasioner, hal ini dikarenakan pada fase ini pembentukan senyawa metabolit sekunder seperti asam lemak yang dapat sebagai senyawa antibakteri telah mencapai maksimum (Naviner et.al., 1999)





Gambar 1. Pola Pertumbuhan Sel (Optical Density) *Dunaliella salina*

Ekstraksi Senyawa Antimikroba

Biomassa diekstraksi menggunakan pelarut petroleum eter, aseton, dan etanol dengan cara maserasi dan digesti. Metode ini digunakan karena lebih mudah dilakukan dan lebih praktis dibandingkan dengan metode lain. Cara ekstraksi dengan metode maserasi dapat memberikan suatu perbedaan konsentrasi antar cairan penyari dengan cairan di dalam sel. Hal ini menyebabkan isi sel akan larut secara difusi sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara cairan penyari dengan cairan di dalam sel. Keadaan bergerak pada proses maserasi menyebabkan turunnya perpindahan zat aktif, sedangkan ekstraksi dengan metode digesti dapat memberikan hasil ekstrak dengan kadar yang lebih tinggi karena pada cara ini menggunakan pemanasan yang dapat meningkatkan kelarutan ekstrak (<http://irwanfarmasi.blogspot.com/201004ekstraksi-menggunakan-proses-infudasi-html>)

Biomassa *Dunaliella salina* diekstraksi sampai terlihat pucat agar senyawa antibakteri yang terkandung dalam biomassa dapat terekstrak optimal. Penggunaan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, bertujuan untuk mendapatkan senyawa yang tersari dari masing-masing pelarut yang berbeda pula.

Pelarut petroleum eter bersifat non polar yang merupakan campuran hidrokarbon cair yang bersifat mudah menguap dan akan melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar pada selubung sel dan dinding sel seperti lemak-lemak, terpenoid dan steroid. Aseton sebagai pelarut semi polar akan melarutkan senyawa bersifat semi polar seperti polifenol dan senyawa xanthon. Etanol sebagai pelarut polar akan melarutkan senyawa yang bersifat polar seperti karbohidrat, dan klorofil (Harbone, J.B., 1978). Pada tahap awal ekstraksi, biomassa yang telah ditambahkan pelarut dipecah selnya dengan sonifier bertujuan untuk memecahkan dinding sel mikroalga sehingga memudahkan penarikan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Dunaliella salina* oleh pelarut, sehingga proses ekstraksi dapat optimal.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Dunaliella salina*

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli* sebagai bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri Gram positif. Masing-masing ekstrak diuji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan metode difusi agar cara cakram dan dilakukan analisis kualitatif terhadap ekstrak yang menghasilkan zona hambat paling besar. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 100%, 75%, dan 50%. Perbedaan konsentrasi yang digunakan dilakukan untuk mengetahui besarnya potensi aktivitas larutan uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, menunjukkan bahwa kedua bakteri uji menunjukkan adanya zona hambat di sekeliling lubang pada semua konsentrasi ekstrak yang diuji (Tabel 1 dan 2). Pada Tabel 1 dan 2, terlihat bahwa konsentrasi ekstrak pada masing-masing metode ekstraksi (maserasi dan digesti) berbanding lurus dengan ukuran diameter zona hambat yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat akan besar, dan sebaliknya.

Ekstrak *Dunaliella salina* yang diperoleh dengan cara maserasi, menunjukkan hasil zona hambat terbesar ditunjukkan oleh bakteri *E. coli* pada ekstrak etanol dan zona hambat terkecil ditunjukkan pada ekstrak aseton. Sedangkan pada bakteri *S.aureus* zona hambat terkecil terdapat pada ekstrak aseton dan zona hambat terbesar dihasilkan oleh ekstrak etanol (Tabel 1).

Pada ekstrak *Dunaliella salina* yang diperoleh dengan cara digesti menunjukkan hasil bahwa zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* pada ekstrak etanol dan terkecil pada ekstrak aseton. Demikian pula halnya, pada bakteri *E.coli* zona hambat terkecil pada ekstrak aseton dan terbesar pada ekstrak etanol (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak petroleum eter,aseton dan etanol mikroalga *Dunaliella salina* dengan metode maserasi terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

Ekstrak	Ulangan	Diameter zona hambat (mm)					
		<i>E.coli</i>			<i>S.aureus</i>		
		A	B	C	A	B	C
Petroleum Eter	I	7,3	6,7	5,8	7,9	6,8	6,6
	II	7,2	6,75	6,35	9,1	7,5	6,6
	Rata-rata	7,25	6,725	6,075	8,5	7,15	6,6
	STDEV	0,071	0,035	0,389	0,849	0,495	0
Aseton	I	6,9	6	5,7	7,8	6,6	6,2
	II	6,85	6,95	6,25	8,4	6,7	6,35
	Rata-rata	6,875	6,475	5,975	8,1	6,65	6,275
	STDEV	0,035	0,672	0,389	0,424	0,071	0,106
Etanol	I	13,8	13	10	14,9	12,4	11
	II	14,4	10,9	9,9	15	13,8	10,3
	Rata-rata	14,1	11,95	9,95	14,95	13,1	10,65
	STDEV	0,424	1,485	0,071	0,071	0,990	0,495

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak petroleum eter, aseton dan etanol mikroalga *Dunaliella salina* dengan metode digesti terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus*

Ekstrak	Ulangan	Diameter zona hambat (mm)					
		<i>E.coli</i>			<i>S.aureus</i>		
		A	B	C	A	B	C
Petroleum Eter	I	9,05	7,6	7,2	9,75	9,35	7,2
	II	8,9	7,6	6,65	9,6	9,4	8,3
	Rata-rata	8,975	7,6	6,925	9,675	9,375	7,75
	STDEV	0,106	0	0,389	0,106	0,035	0,778
Aseton	I	9,1	7,7	7,1	11	6,5	6,8
	II	7,05	6,5	6,2	7,2	8,25	7,65
	Rata-rata	8,075	7,1	6,65	9,1	7,375	7,225
	STDEV	1,450	0,849	0,636	2,687	1,237	0,601
Etanol	I	15,3	12,2	11	17,4	14	12,3
	II	14,8	12,1	10,1	15,8	14,7	12,5
	Rata-rata	15,05	12,15	10,55	16,6	14,35	12,4
	STDEV	0,354	0,071	0,636	1,131	0,495	0,141

Keterangan : A. Konsentrasi 3.10^5 ppm,
 B. Konsentrasi $2,25.10^5$ ppm
 C. konsentrasi $1,5.10^5$ ppm

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, ternyata zona hambat terbesar yang terbentuk pada bakteri *S.aureus* dan *E.coli* ditunjukkan pada ekstrak etanol (maserasi dan digesti) dibandingkan dengan ekstrak aseton dan ekstrak petroleum eter. Sedangkan jika membandingkan antara kedua bakteri uji yang digunakan ternyata pada semua ekstrak yang diuji, zona hambat bakteri Gram positif (*S.aureus*) lebih besar dibandingkan Gram negatif (*E.coli*). Hal ini dikarenakan adanya perbedaan sensitifitas antara bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dengan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*), yaitu adanya perbedaan struktur dinding sel. Pada bakteri Gram positif, struktur dinding selnya tebal (15-80 nm) dan memiliki lapisan tunggal (mono), sedangkan pada bakteri Gram negatif yaitu *E. coli*, struktur dinding selnya tipis (10-15 nm) dan memiliki tiga lapisan (multi). Disamping itu juga karena struktur dinding sel bakteri Gram positif berupa kandung lemak yang rendah (1-4%) dibandingkan dengan bakteri Gram negatif, kandungan lemaknya tinggi



(11-22%) yang menyebabkan sulitnya terabsorpsi senyawa antibakteri ke dalam sel *E. coli*. Senyawa antibakteri yang mudah terabsorpsi ke dalam sel menyebabkan bakteri tersebut mati (Pelczar MD., 1986).

Selain hal diatas, berdasarkan hasil identifikasi dengan KG-SM menunjukkan adanya senyawa fenol dalam semua ekstrak *D. salina* yang menyebabkan zona hambat pada *E.coli* lebih kecil dibandingkan dengan *S.aureus*. *E.coli* lebih resisten terhadap fenol dan ketahanannya terhadap fenol dalam ekstrak uji dapat mempengaruhi pembentukan zona hambat mati (Pelczar MD., 1986) dan juga dilaporkan bahwa fenol memiliki kemampuan antibakteri yang lebih kuat terhadap bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (Anonym, 1982). Fenol memiliki kecenderungan mengikat protein bakteri sehingga menghambat aktivitas enzim yang akhirnya mengganggu aktivitas enzim metabolisme bakteri (Pelczar MD., 1986)

Pada Tabel 1 dan 2 juga tampak, berdasarkan metode ekstraksi yang digunakan (maserasi dan digesti), ternyata *D.salina* yang diekstrak dengan cara digesti menunjukkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan maserasi, hal ini dikarenakan metode digesti menggunakan pemanasan yang dapat meningkatkan kelarutan senyawa-senyawa antibakteri dalam ekstrak sehingga dapat memberikan hasil ekstrak dengan kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode maserasi (<http://irwanfarmasi.blogspot.com> 201004ekstraksi-menggunakan-proses-infudasi-html)

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan petroleum eter, aseton, dan etanol, hasilnya menunjukkan tidak adanya zona hambat pada kedua bakteri uji, hal ini menunjukkan ekstrak *Dunaliella salina* mempunyai sifat antibakteri. Selain itu juga dilakukan kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol yang bertujuan untuk menguji sensitivitas bakteri *S.aureus* dan *E. coli*. Mekanisme kerja dari antibiotik kloramfenikol digolongkan sebagai antibiotik dengan spektrum luas yaitu efektif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Identifikasi Senyawa Antibakteri Dengan KG - SM

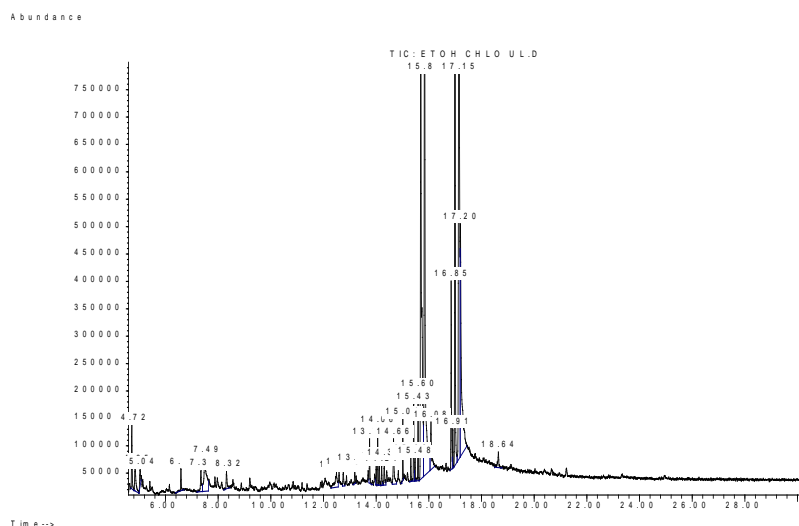
Uji kualitatif dengan KG-SM dilakukan pada ekstrak yang mempunyai zona hambat terbesar, yaitu ekstrak etanol yang didapat dengan cara maserasi dan digesti.

Hasil KG-SM yang diperoleh dari ekstrak etanol secara maserasi dengan kualitas persen diatas 90% terdapat senyawa As. Heksadekanoat (12.98 %), As. metil ester Heksadekanoat (0.67%), As. 8,11-metil ester Oktadekadienoat (1.76 %), As. 9,12-Oktadekadienoat (19.70 %), yang merupakan senyawa golongan asam lemak (Tabel 3 dan Gambar 2).

Tabel 3. Hasil analisis senyawa ekstrak etanol metode digesti *Dunaliella salina* menggunakan KG-SM

Waktu Retensi (menit)	Area	Senyawa	Rumus Molekul	% Kual
13.75	0.70	As.siklopentaneacetat, 3-oxo-2-pentyl-,methyl ester	C ₁₃ H ₂₂ O ₃	99
15.01	0.68	Neophytadiena	C ₂₀ H ₃₈	99
15.43	1.15	As. Heksadekadienoat metil ester (CAS)	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	95
15.60	1.28	As. n-metil ester heksadekanoat	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	99
15.74	3.60	6(Z),9(E)-Heptadekadiene	C ₁₇ H ₃₂	95
15.84	17.08	As. Heksadekanoat	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	99
16.85	2.89	As. 9,12-metil ester oktadekadienoat (CAS)	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	99
16.91	0.60	As. 9,12,15-metil ester oktadekatrienoat	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	98
17.15	22.73	As. 9,12- oktadekadienoat	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	98
17.00	16.06	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	91



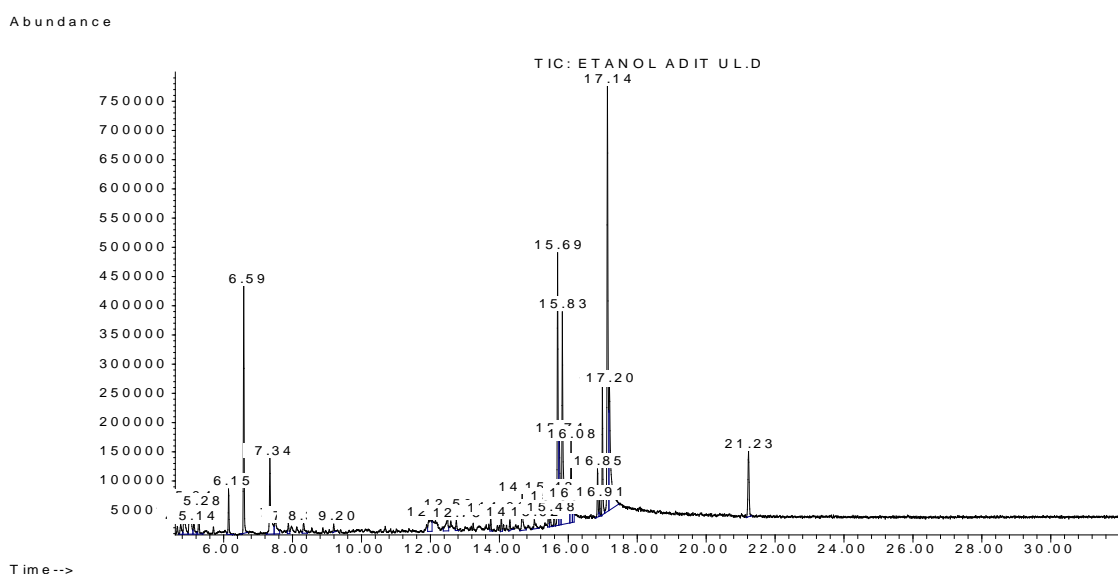


Gambar 2. Kromatogram ekstrak etanol metode digesti *Dunaliella salina*

Sedangkan hasil KG-SM ekstrak etanol secara digesti adalah senyawa golongan asam lemak, terpenoid, dan fenol, yaitu As. Heksadekanoat (17.08 %), As. 9,12- Oktadekadienoat (22.73 %), As. 9,12- metil ester Oktadekadienoat (2.89 %), Neophytadiena (0,68%), Phytol (16.06 %) (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil analisis senyawa ekstrak etanol metode maserasi *Dunaliella salina* menggunakan KG-SM

Waktu Retensi (menit)	Area	Senyawa	Rumus Molekul	% Kual
15.43	0.95	As. Heksadekadienoat, methyl ester	$C_{17}H_{30}O_2$	93
15.60	0.67	As. metil ester heksadekanoat	$C_{17}H_{34}O_2$	96
15.74	5.30	11-Hexadecinal	$C_{16}H_{28}O$	96
15.83	12.98	As. Heksadekanoat	$C_{16}H_{32}O_2$	99
16.85	1.76	As. 8,11-metil ester oktadekadienoat	$C_{19}H_{34}O_2$	99
17.14	19.70	As. 9,12-oktadekadienoat	$C_{18}H_{32}O_2$	98



Gambar 3. Hasil analisis ekstrak etanol metode maserasi *Dunaliella salina* dengan KG-SM

Berdasarkan analisis kualitatif terhadap ekstrak etanol dengan metode maserasi, senyawa dengan persentase kualitatif diatas 90% sebagian besar merupakan senyawa golongan asam lemak. Sedangkan untuk ekstrak etanol secara digesti, senyawa dengan persentase kualitatif diatas 90 % antara lain asam lemak, golongan terpenoid dan fenol. Hal ini yang menyebabkan zona hambat pada ekstrak yang dihasilkan dengan metode digesti lebih besar dibandingkan dengan ekstraksi dengan maserasi. Disamping itu, juga karena luas area asam lemak yang dihasilkan dari metode digesti (45,73%) lebih besar dibandingkan dengan metode maserasi (36.06%). Senyawa asam lemak yang terdapat pada ekstrak etanol dengan cara



digesti maupun maserasi adalah As. Heksadekanoat (asam palmitat) dan As. 9,12 – Oktadekadienoat (asam linoleat). (Tabel 3 dan Tabel 4). Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Borowitzka (1988) bahwa, senyawa yang bersifat sebagai antibakteri dalam mikroalga *Dunaliella salina* adalah 3-trans heksadekanoat dan asam linolenat yang merupakan golongan asam lemak. Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh M. Herrero, et al. 2006, melaporkan bahwa As. Heksadekanoat (asam palmitat), As. 9,12 – Oktadekadienoat (asam linoleat), dan neophytadiena merupakan senyawa yang bersifat sebagai antibakteri. Hal ini sesuai dengan hasil analisis kualitatif dengan menggunakan KG-SM pada penelitian ini, bahwa senyawa antibakteri yang diidentifikasi adalah As. Heksadekanoat, As. 9,12 – Oktadekadienoat, dan neophytadiena di samping senyawa lainnya (Tabel V.3). Perbedaan kandungan senyawa antibakteri yang terdapat pada *Dunaliella salina* sangat dipengaruhi oleh komposisi media kultur yang digunakan, faktor lingkungan tempat tumbuhnya, intensitas cahaya yang diterima dan cara mengekstraksi mikroalga tersebut (Weldy, C.S dan Huesemann, M., 2011)

SIMPULAN

1. Ekstrak mikroalga *Dunaliella salina* dengan menggunakan metode maserasi dan digesti mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan dengan yaitu *Escherichia coli*.
2. Ekstrak etanol dengan metode maserasi dan digesti mempunyai aktivitas antibakteri terbesar. Zona hambat yang dihasilkan dengan metode digesti lebih besar dibandingkan dengan metode maserasi pada semua pelarut yang digunakan.
3. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol metode digesti adalah Asam. Heksadekanoat, Asam. 9,12- oktadekadienoat, Asam. 9,12-metil ester oktadekadienoat, Neophytadiena, Phytol. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol metode maserasi adalah Asam. Heksadekanoat, Asam. 8,11- metil ester oktadekadienoat, Asam. 9,12-oktadekadienoat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Sdr. M. A. Rachmansyah yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Borowitzka M. A., (1994). *Microalgae as Sources of Pharmaceuticals and Other Biologically Active Compounds*, Algal Biotechnology Laboratory, School of Biological & Environmental Sciences, Murdoch University, Perth, W.A. 6150,
- Harborne J. B., (1978). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, edisi II. (Terj.). Padma W. K, Sudiro. I., ITB, Bandung, hal 3-15
- Herrero. M, Ibanez. E, Cifuentes. A, Reglero. G., (2006). *Dunaliella salina Microalga Pressurized Liquid Extracts as Potential Antimicrobials*. Spain: Instituto de Fermentaciones Industriales CSIC Juan de la Cierva Madrid.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Oinston LN. (1996). *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed.20. (Terj.). Nugroho B, Mavlyany RF. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal. 211, 238-241
- Martindale. (1982). *The Extra Pharmacopeia*, (28th Ed.). London: The Pharmaceutical Press. hal. 547
- Naviner M, Berge JP, Duran p, Le Bris H. (1999). Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens. *Journal Aquaculture*, 174: 15-24.
- Pelczar MJ, Reid RD. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. (1st Ed.). (Terj.). Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 1986. Hal. 489-522
- Weldy, C. S and Huesemann, M., *Lipid Production by Dunaliella salina in Batch Culture: Effects of Nitrogen Limitation and Light Intensity*, science Undergraduate Laboratory Internship Program at Pacific Northwest National Lab. (online). <http://www.scied.science.doe.gov>. Desember 2011.
- Tjahyo W, Ernawati L, Hanung S.. (2002). *Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan: Proyek Pengembangan Perencanaan Ekologi Balai Budaya Laut Lampung, hal 30.
- <http://irwanfarmasi.blogspot.com201004ekstraksi-menggunakan-proses-infudasi.html>. 27/04/2012.

DISKUSI

-

