

Ekstraksi Senyawa Antibakteri dari *Chlorella* Sp.

Extraction Antibakteri Compound from Chlorella sp.

Max R. Wenno¹, Ninik Purbosari², Johanna L. Thenu³

¹Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Perikanan Unpatti

²Staf Pengajar Politeknik Negeri Lampung

³Widyaiswara Pertama Balai Pendidikan dan Pelatihan Perikanan Ambon.

ABSTRACT

Some bioactive compounds are produced by microalgae. One of them is antibacterial compounds that produced by Chlorella sp which is result of secondary metabolit. This compound called Chlorellin which is mixed of fatty acid. The experiment was conducted to extraction of bioactive compound and was knew antibacterial activity of Chlorella sp. Based to antibacterial activity assay, the crude extract of Chlorella sp. has been pursued growth of sampel bacteria : E.coli, S.aureus, A.hydophyla, P. Aeruginosa and V. Harveyi. This antibacterial activity marked with the forming of transparent zona is around paper disc on the agar media.

Keywords: Chlorella, extraction, antibacterial compound

Diterima: 10-04-2010, disetujui: 28-04-2010

PENDAHULUAN

Pertumbuhan maksimum *Chlorella* sp. yang dikultivasi dicapai setelah kultur berumur 24 hari yaitu $6,93 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ (Gambar 1) kemudian mengalami penurunan Mikroalga adalah mikroorganisme fotosintetik dengan morfologi sel yang bervariasi, baik uniselular maupun multiselular (membentuk koloni kecil). Sebagian besar mikroalga tumbuh secara fototrofik, meskipun tidak sedikit jenis yang mampu tumbuh secara heterotrofik. Ganggang hijau-biru prokariotik (cyanobacteria) juga termasuk dalam kelompok mikroalga. Hingga saat ini tidak kurang dari 30.000 jenis mikroalga telah dikenal dan dipelajari secara intensif (Metting dan Pyne, 1986). *Chlorella* sp. adalah mikroalga hijau uniseluler yang pertama kali digunakan dalam penelitian. *Chlorella* sp. merupakan salah satu spesies mikroalga yang memiliki banyak manfaat, telah diproduksi secara komersial dan digunakan sebagai makanan kesehatan (*health food*) 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%.

Manfaat dan nilai komersial mikroalga bagi kepentingan industri telah cukup lama dikenal. Sejak tahun 1940 penelitian dan pengembangan secara intensif telah dilakukan di beberapa negara, baik dalam skala laboratorium maupun lapang. Mikroorganisme fotosintetik ini telah dimanfaatkan dalam produksi biomassa, produksi energi, produksi berbagai produk bermanfaat, bioakumulasi senyawa tertentu serta berbagai proses biotransformasi. Produk-produk yang dihasilkan mikroalga bersifat intraseluler dan ekstraseluler, mulai dari metabolit sederhana hingga antibiotik kompleks, toksin, pigmen serta sejumlah produk bermanfaat lainnya.

Sejumlah penelitian di USA dan Eropa menunjukkan bahwa *Chlorella* sp juga dapat membantu tubuh terhadap gangguan logam berat seperti Hg, Cd serta Pb dengan meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Mercola, 2006). *Chlorella* sp mulai digunakan secara klinis sebagai detoksifikasi bagi orang yang keracunan logam berat, insektisida, pestisida dan hidrokarbon dengan hasil cukup baik (Steenblock, 1996). Adanya kemampuan *Chlorella* sp. sebagai bioabsorpsi yang kuat terhadap logam berat, maka *Chlorella* sp. digunakan sebagai bioremediator dalam menetralsir limbah industri maupun perairan yang tercemar.

Di Jepang perhatian terhadap *Chlorella* sp. lebih difokuskan terhadap sifat detoksifikasinya. Hal ini dikarenakan kemampuannya untuk menghilangkan atau menetralsir senyawa racun di dalam tubuh. Klorofil pada *Chlorella* sp. berfungsi sebagai pembersih matrik toksik dalam tubuh. Kandungan klorofil yang tinggi pada *Chlorella* sp dapat mempercepat pembersihan matrik toksik dalam usus, pembuluh darah dan hati. Selain itu klorofil dalam *Chlorella* sp. juga efektif mencegah anemia serta merangsang pembentukan sel darah merah dalam tubuh melalui cara penyediaan bahan permulaan (*precursor*) pembentukan hemoglobin (Mercola, 2006).

Semakin meningkatnya tuntutan kebutuhan terhadap produk-produk tersebut di pasar dunia, mengakibatkan sistem kultivasi sel mikroalga semakin banyak diminati dan dipelajari. Sejumlah industri mulai mengembangkan sistem fermentasi heterotrofik, dengan melibatkan berbagai teknik peningkatan produktivitas dan efisiensi produksi. Kultivasi sel yang semula dilangsungkan dalam skala besar dengan sistem outdoor pada kolam-kolam, mulai dialihkan dengan menggunakan bioreaktor-bioreaktor, baik bioreaktor tertutup (*enclosed bioreactor*) maupun bioreaktor tembus cahaya (*photobioreactor*).

Ekstraksi senyawa aktif dari mikroalga *Chlorella* sp. dengan menggunakan pelarut bertujuan untuk memperoleh hasil yang optimal baik jumlah ekstrak maupun senyawa aktif yang dikandung ekstrak. Dalam ekstraksi senyawa antibakteri *Chlorella* sp. diperlukan waktu ekstraksi yang tepat agar diperoleh zat aktif dengan rendemen yang besar dan mempunyai aktivitas yang baik untuk menghentikan pertumbuhan bakteri patogen maupun bakteri penyebab kerusakan pangan. Diharapkan senyawa antibakteri dari mikroalga *Chlorella* sp. dapat digunakan atau diaplikasikan secara luas terhadap bahan pangan sebagai pengganti senyawa antibakteri sintesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstrak senyawa antibakteri intraseluler dari *Chlorella* sp. dan melakukan uji aktivitas senyawa antibakteri yang dihasilkan *Chlorella* sp. pada bakteri uji *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophyla* dan *Vibrio harveyi*.

METODE

Bahan dan Alat

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

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Erlenmeyer berukuran 1000 ml, toples berkapasitas 2 liter, gelas ukur, selang silikon, aerator, lampu neon 20 watt, pipet volumetrik, hemasitometer, tabung reaksi, timbangan analitik, pembakar spiritus, autoklaf, sentrifuse, tabung sentrifuse, *sonicator*, corong, tabung reaksi, erlenmeyer, *magnetic stirrer*, *hot plate*, kertas saring, *membran filter*, evaporator, botol ekstrak (vial), tabung reaksi, cawan petri, pipet mikro, vortex, *spektrofotometer*, jarum ose, pinset, inkubator dan mikroskop.

Tahap penelitian

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

Proses ekstraksi dilakukan dengan mengambil sampel rumput laut, kemudian dikeringkan dalam ruang asam. Rumput laut dipotong kecil-kecil kemudian diblender. Rumput laut yang sudah menjadi kecil kemudian ditimbang, selanjutnya ditambahkan pelarut organik dalam wadah erlenmeyer, ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Setelah itu dimaserasi selama 24 jam. Proses selanjutnya adalah penyaringan dalam ruang asam sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang didapatkan kemudian dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan terlebih dahulu menyiapkan inokulum bakteri, dimana 1 loop bakteri target diinokulasikan pada media dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20 jam. Selanjutnya inokulum bakteri tersebut diambil sebanyak 1 ml dan dicampurkan ke dalam media *Muller Hinton* yang sudah disiapkan sebelumnya, kemudian divortex. Proses selanjutnya adalah menuangkan campuran tersebut ke dalam cawan petri steril dan diinginkan sampai membeku.

Ekstrak diambil sebanyak 20 µl dan diletakkan pada kertas cakram. Selanjutnya kertas tersebut diletakkan pada media agar yang sudah diinokulasi dengan bakteri. Setelah itu di inkubasi selama 18-24 jam, dan diamati adanya zona bening yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

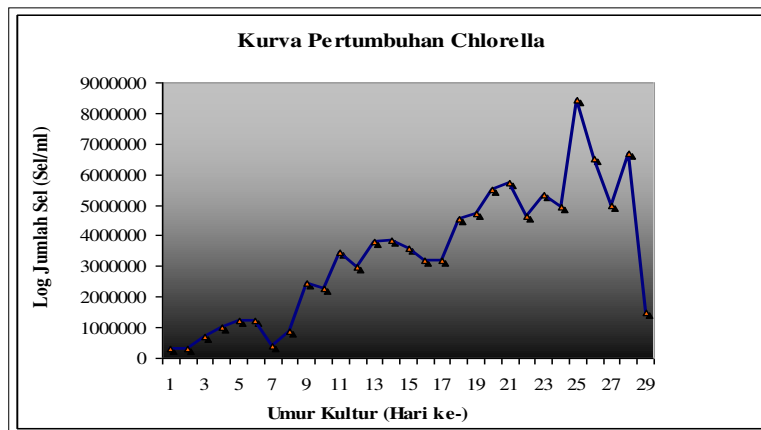
Kultivasi *Chlorella sp*

Pengamatan pada saat kultivasi menunjukkan peningkatan jumlah sel *Chlorella sp* dari kepadatan awal $5,46 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ (hari ke-0) menjadi $6,08 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ pada hari ke-5. Selanjutnya pada hari ke-6 jumlah sel kembali menurun menjadi $5,60 \times 10^6$ (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa *Chlorella sp* mempunyai kemampuan dalam melakukan pembelahan sel pada fase lag (fase adaptasi) meskipun dalam jumlah yang tidak terlalu fluktuatif.

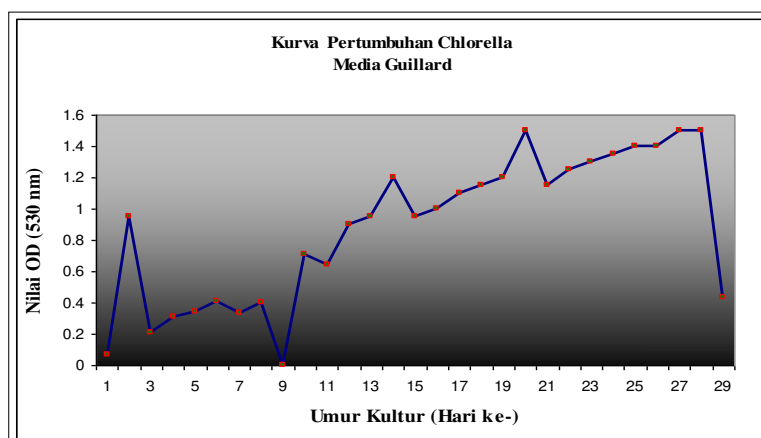
Pengamatan hari ke-7 menunjukkan bahwa jumlah sel *Chlorella sp* ($5,59 \times 10^6$) mengalami peningkatan. Diduga telah terjadi fase pertumbuhan atau disebut sebagai fase logaritmik. Hal ini karena pada pengamatan hari berikutnya hingga pada pengamatan hari ke-24 jumlah selnya terus mengalami kenaikan, meskipun terdapat beberapa pengamatan yang menunjukkan jumlah sel mikroalga menurun. Kondisi ini didukung pula oleh peningkatan nilai kepadatan sel (OD) sampai hari ke-27 (Gambar 3). Kultivasi, kurva pertumbuhan, dan kepadatan sel *Chlorella sp* dapat dilihat pada Gambar 1-3.



Gambar 1. Kultur *Chlorella sp*.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Chlorella sp*. Media Guillard



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan *Chlorella sp* Berdasarkan Kepadatan Sel

Pertumbuhan maksimum *Chlorella* sp. yang dikultivasi dicapai setelah kultur berumur 24 hari yaitu $6,93 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ (Gambar 2) kemudian mengalami penurunan sampai pada hari ke-28. Hal ini diduga kultur *Chlorella* sp. mengalami fase stasioner. Fase penurunan laju pertumbuhan berlangsung selama 4 hari, yaitu dari $6,93 \times 10^6$ sel.ml⁻¹ dan menurun hingga $6,17 \times 10^6$ sel.ml⁻¹.

Penurunan jumlah sel disebabkan oleh beberapa faktor yaitu, pembentukan senyawa autoinhibitor yang merupakan suatu metabolit sekunder pada mikroalga dapat terjadi karena adanya perubahan kondisi lingkungan (kultur) seperti perubahan pH, penurunan intensitas cahaya dan penurunan konsentrasi nutrisi (Metting dan Pyne, 1986). Pada fase stasioner, mikroorganisme masih dapat memanfaatkan bahan-bahan cadangan, sebagian ribosom dapat diuraikan dan masih terjadi pembentukan enzim untuk pertumbuhan. Selama energi yang dibutuhkan untuk mempertahankan sel masih dapat diperoleh dari hasil respirasi bahan simpanan dan protein maka mikroorganisme masih mampu mempertahankan hidupnya untuk masa yang panjang.

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 dilakukan pada sel *Chlorella* sp untuk memisahkan ekstrak intraselulernya dan ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut organik metanol.

Hasil panen dari kultur *Chlorella* sp. yang mempunyai volume kultur sekitar 6 liter menghasilkan biomassa sebesar 2,46 gr. Biomassa sel *Chlorella* sp diperoleh dengan beberapa tahapan yaitu sentrifuse, sonikasi, maserasi, penyaringan, dan evaporasi. Dari tahapan ini diperoleh ekstrak intraseluler senyawa antibakteri dari *Chlorella* sp. sebesar 0,0301 gr (berwarna hijau tua dan pekat). Ekstrak yang dihasilkan merupakan hasil ekstrak kasar yang belum mengalami tahap pemurnian. Pada umumnya, ekstraksi menggunakan pelarut tidak dapat menghasilkan komponen yang diinginkan secara sempurna, kecuali dilanjutkan dengan tahap pemurnian. Hal ini terjadi karena komponen lain yang tidak dikehendaki juga ikut terekstraksi dan sulit untuk dipisahkan. Akibatnya ekstrak yang diperoleh merupakan suatu campuran dengan komponen lain, seperti asam-asam lemak, pigmen, dan vitamin (Sa'id, 1993).

Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri *Chlorella* sp

Uji aktivitas senyawa antibakteri bertujuan untuk melihat ada tidaknya aktivitas antibakteri pada ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp. Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap lima bakteri uji yaitu, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *A. hydrophyla*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Vibrio harveyi*. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri, ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp. dapat menghambat semua pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif. Diameter hambatan ekstrak dan klorampenikol yang terbentuk pada bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp. menunjukkan bahwa ekstrak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *A. hydrophyla*, *P. aeruginosa* 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 klorampenikol yang terdapat pada ekstrak kasar intraseluler *Chlorella*

sp. Alasan ini dibuktikan dengan terbentuknya zona bening atau diameter hambat disekitar *paper disc* yang telah ditetaskan antibiotik klorampenikol.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp

Bakteri Uji	Diameter Zona Hambat (cm)		
	A	B	K
<i>E. coli</i>	1,3	2,4	2,6
<i>S.aureus</i>	2,7	2,3	1,3
<i>A. hydrophyla</i>	2,9	2,4	2,4
<i>P. aeruginosa</i>	1,9	0,3	0,9
<i>V. harveyi</i>	3,4	1,9	2,1

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

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri, ekstrak kasar intraseluler *Chlorella* sp. dapat menghambat pertumbuhan ke-5 bakteri uji yaitu; *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *A. hydrophyla*, *P. aeruginosa* dan *Vibrio harveyi*. Diameter hambatan ekstrak dan klorampenikol yang terbentuk pada ke-5 bakteri uji tersebut bervariasi, yaitu dari diameter terkecil 0,3 cm sampai diameter yang terbesar yaitu 3,4 cm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan ekstraksi komponen bioaktif lainnya dari *Chlorella* sp. seperti pigmen, antioksidan, polisakarida dan asam lemak

DAFTAR PUSTAKA

- Mercola, 2006. *Chlorella-Anatural Wonder Food*. http://www.mercola.com/chlorella/health_benefits.html.
- Metting, B dan Pyne, J.W. 1986. *Biologically Active Compound From microalgal* Journal of Enzym Microb. Technology. Vol 8. Butterworth and Co.
- Pelczar, M.J. dan Chan. 1986. *Microalga Culture Refine from The CRC Critical Reviews in Biotechnology*. Vo. 4 CRC Press. INC. New York.
- Sa'id,GG. 1993. *Bioindustri, Penerapan Teknologi Fermentasi*. PT. Mediyatama Sarana Perkasa. Jakarta.
- Steenblock, D. 1996. *Makanan Sehat Alami*. PT. Centranusa Insan Cemerlang dan PT. Gramedia. Jakarta.
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*. Taylor and Francis. hlm 234.

Max R. Wenno, Ninik Purbosari, Johanna L. Thenu: Extraction Antibakteri Compound...

Vonshak, A. 1990. *Recent advances in microalgal biotechnology*. Journal biotechnology Adv. Vol8. Pergamon Press, Plc. Britain.

Winarno, F.G, D. Fardiaz dan S. Fardiaz. 1973. *Ekstraksi, Kromatografi dan Elektroforesis*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.