

AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA ASAM LEMAK DARI MIKROALGA *Lyngbya* sp.

(*Antibacterial Activity and Fatty Acid Compounds Identification from Microalgae Lyngbya sp.*)

Ni Wayan Sri Agustini¹, Kusmiati¹ dan D. Handayani²

¹Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911, Indonesia

²Fak. Farmasi, Univ. Pancasila. Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jaksel 12640, Indonesia
e-mail: wayan_sa2002@yahoo.com

Naskah diterima 16 Maret 2017, revisi akhir 9 Oktober 2017 dan disetujui untuk diterbitkan 12 Oktober 2017

ABSTRAK. Asam lemak memiliki aktivitas biologis untuk menghentikan atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Salah satu mikroalga penghasil asam lemak adalah *Lyngbya* sp. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa kimia yang mempunyai aktivitas antibakteri dari mikroalga *Lyngbya* sp. Metode ekstraksi yang digunakan khusus untuk mengisolasi senyawa asam lemak dengan pelarut diklorometan. Ekstrak yang diperoleh adalah ekstrak A, B dan C, masing-masing ekstrak lalu diuji aktivitas antibakterinya dengan metode difusi menggunakan kertas cakram. Setelah diketahui ekstrak C merupakan ekstrak teraktif, selanjutnya ekstrak tersebut difraksinasi menggunakan kromatografi kolom SiO₂ dengan pelarut diklorometana-etil asetat (1:1). Fraksi yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antibakterinya dan ditetapkan fraksi yang mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri dengan zona hambat tertinggi diidentifikasi dengan kromatografi gas-spektrometri massa. Fraksi 16 ekstrak C memberikan aktivitas antibakteri dengan zona hambat 30,30 mm. Identifikasi fraksi 16 dengan kromatografi gas-spektrometer massa menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang bersifat antibakteri adalah asam ftalat (bis(2 etil heksil) ftalat 1,2 benzena asam karboksilat) dengan waktu retensi 19,73 menit yang merupakan golongan asam lemak.

Kata kunci: antibakteri, asam lemak, kromatografi, *Lyngbya* sp.

ABSTRACT. Fatty acid has biological activity to terminate or inhibit the growth of pathogenic bacteria. *Lyngbya* sp. is one of microalgae that producing fatty acid. This study aims to obtain a compound with antibacterial activity from *Lyngbya* sp. The extraction method used specifically to isolate fatty acid with dichloromethane solvents. The A, B and C extracts were tested its antibacterial activity using diffusion method with paper disc. The C extract which most active was fractionated using SiO₂ column chromatography, dichloromethane-ethyl acetate (1:1). The result then tested against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Fraction that had antibacterial activity with highest inhibition zone was identified using Gas Chromatography Mass Spectrometry. The 16th fraction of the C extract had the highest antibacterial activity with inhibition zone of 30.30 mm. The identification of 16th fraction showed it was phthalic acid (bis(2-ethylhexyl) phthalate 1.2 benzene dicarboxylic acid) with retention time 19.73 minutes which classified as fatty acid.

Keywords: antibacterial, chromatography, fatty acid, *Lyngbya* sp.

1. PENDAHULUAN

Lyngbya sp. merupakan mikroalga jenis alga hijau-biru yang telah hidup sejak

1,5 miliar tahun lalu. Selama berevolusi, sistem metabolismenya juga berubah sesuai dengan lingkungannya (Ojit, *et al.*,

2015). Menurut Devi & Mehta (2015), alga hijau-biru adalah kelompok prokariot Gram negatif dan merupakan mikroorganisme yang terdistribusikan secara luas serta dapat berfotosintesis dan tumbuh sebagai organisme yang hidup bebas atau sebagai simbiosis dengan tanaman lain dan lumut.

Isolasi senyawa bioaktif yang bersumber dari alga hijau-biru telah banyak dilakukan sehingga potensi senyawa bioaktif yang bersumber dari mikroalga telah banyak diketahui. Beberapa senyawa bioaktif seperti eksopolisakarida, karotenoid, asam lemak, asam amino, hidrokarbon, gliserol, vitamin dan fikobiliprotein merupakan metabolit dengan beragam aktivitas biologis seperti antialga, antijamur, antiviral dan antibakteri (Santhosh, *et al.*, 2016).

Senyawa antibakteri dari mikroalga banyak yang belum teridentifikasi, namun ada beberapa yang telah diketahui komponen penyusunnya, diantaranya adalah senyawa fenol, *aplysiatoxin*, *phlorotannins*, peptida, terpen, polisakarida, *polyacetylenes*, sterol, alkaloid, asam organik aromatik, asam shikimat, poliketida, hidroquinon dan asam lemak (Shannon dan Abu-Ghannam, 2016). Desbois & Smith (2010) menyatakan bahwa senyawa antibakteri berupa asam lemak, asam lemak jenuh dan tidak jenuh dengan rantai panjang memiliki aktivitas bakterisida. Selain itu, asam lemak yang memiliki atom karbon lebih dari sepuluh juga diketahui dapat menyebabkan lisis protoplasma pada bakteri yang dapat mengakibatkan kematian bakteri. Asam lemak dari mikroalga juga telah digunakan dalam pengobatan penyakit inflamasi, parkinson, sklerosis ganda, *premenstrual syndrome*, penyakit jantung dan gangguan kesehatan lainnya.

Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa asam lemak dari *Lyngbya* sp. yang mempunyai aktivitas antibakteri. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode Naviner, *et al.*, 1999, yang khusus mengisolasi senyawa asam lemak dengan pelarut diklorometan.

2. METODE PENELITIAN

Mikroba yang digunakan yaitu mikroalga *Lyngbya* sp., sedangkan untuk bakteri uji adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Isolat yang digunakan merupakan koleksi milik Puslit Bioteknologi-LIPI, Cibinong.

Kultivasi Mikroalga *Lyngbya* sp. (Cyanosite, 2009)

Mikroalga *Lyngbya* sp. dikultivasi dalam medium CM (Alga hijau-biru Medium) yang terdiri dari 0,05 g/L magnesium sulfat; 0,50 g/L kalium nitrat; 0,0375 g/L ferri klorida; 2,86 g/L asam borat; 1,81 g/L mangan klorida tetrahidrat; 0,22 g/L seng sulfat dihidrat; 0,018 g/L amonium molibdat dan 0,079 g/L tembaga (II) sulfat pentahidrat. Kultur dibuat pada botol berkapasitas 1000 mL dan pencahayaan dari lampu neon dengan intensitas cahaya 2500 lux dengan pH awal 7,0 (netral) dan kepadatan awal sel adalah 0,5 (*Optical Density* 680 nm).

Penetapan Kepadatan Biomassa

Pertumbuhan *Lyngbya* sp. ditetapkan berdasarkan kepadatan biomassa menggunakan metoda turbidimetri (Becker, 1994). Pengukuran dilakukan dengan mengukur nilai *Optical Density* (OD) pada spektrofotometer UV-Vis gelombang 680 nm karena *Lyngbya* sp. berwarna biru kehijauan. Nilai serapan yang didapat menunjukkan kepadatan biomassa merupakan tahap pertumbuhan *Lyngbya* sp. Kurva pertumbuhan dibuat dengan memplotkan hubungan antara waktu kultur (sebagai absis) dan kepadatan biomassa (sebagai ordinat).

Ekstraksi Senyawa Antibakteri (Naviner, *et al.*, 1999)

Biomassa kering mikroalga sebanyak 20 g diekstraksi menggunakan 60 mL etanol dengan 5 kali pengulangan. Filtrat etanol dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*, setelah itu dipartisi dengan campuran akuades dan diklorometan (1:1). Fase diklorometan dikumpulkan dan diuapkan pada suhu 37°C sehingga diperoleh ekstrak A. Selanjutnya ekstrak A dilarutkan dalam

150 ml diklorometan dan dipartisi dengan 180 mL NaOH 0,5 N, dilakukan pengulangan 3 kali. Fase air diambil dan dinetralkan dengan HCl 8 N dan dipartisi kembali dengan 165 mL diklorometan sebanyak 4 kali pengulangan. Fase diklorometan dikumpulkan, kemudian diuapkan pada suhu 37°C sehingga diperoleh ekstrak B. Ekstrak B kemudian ditambahkan dengan 100 mL metanol-air (90:10), dilakukan sebanyak 2 kali. Setelah itu dipartisi dengan 100 mL n-heksana. Fase n-heksana dibuang sedangkan fase metanol-air ditambahkan 50 mL akuades. Selanjutnya fase metanol-air dipartisi dengan 100 mL diklorometan dan dilakukan 6 kali pengulangan. Fase diklorometan dikumpulkan dan diuapkan pada suhu 37°C sehingga didapat ekstrak C.

Pengujian Aktivitas Antibakteri (Vanden & Vlietinck, 1991)

Uji aktivitas antibakteri dengan pecadang cakram menggunakan 2 lapisan yaitu agar padat pada bagian bawah (1,5%) dan agar lunak pada bagian atas (0,75%). Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap ekstrak A, ekstrak B, ekstrak C dan fraksi-fraksi dari kromatografi kolom.

Bakteri uji (*S. aureus* dan *E. coli*) diambil sebanyak 50 µL, 100 µL dan 150 µL kemudian dimasukkan ke dalam 8 mL media steril agar lunak (0,75%) untuk uji aktivitas antibakteri ekstrak A, ekstrak B, dan ekstrak C serta 50 µL untuk uji aktivitas antibakteri masing-masing fraksi kromatografi kolom. Volume masing-masing ekstrak (A, B, C dan masing-masing fraksi kromatografi kolom) adalah 20 µL.

Antibiotik kloramfenikol sebanyak 5 bpj digunakan sebagai kontrol positif sedangkan sebagai kontrol negatif digunakan pelarut diklorometan (untuk ekstrak) dan pelarut diklorometan-etil asetat (1:1) untuk fraksi kromatografi kolom.

Zona hambat diperoleh dengan cara mengukur diameter hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri terbesar dilanjutkan dengan

identifikasi senyawa asam lemak menggunakan kromatografi gas-spektrometer massa

Fraksinasi Ekstrak C dengan Kromatografi Kolom

Ekstrak C difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan fase gerak diklorometan-etil asetat (1:1) secara isokratik dengan fase diam silika gel G₆₀. Sebanyak 0,1004 g ekstrak C ditambah dengan celite₅₄₅ dicampur sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam kolom. Fase gerak dimasukkan ke dalam kolom secara berkesinambungan. Fraksi-fraksi yang keluar dari kolom ditampung sebanyak 5 mL.

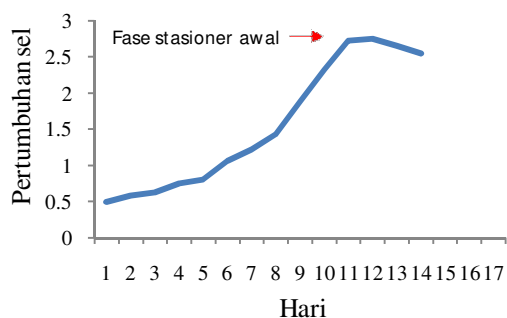
Identifikasi Fraksi Zona Antibakteri Terbesar dengan KG-SM

Fraksi dari kromatografi kolom yang mempunyai aktivitas antibakteri terbesar dianalisis dengan kromatografi gas-spektrometer massa untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung didalamnya. Alat KG-SM yang digunakan adalah *Agilent Technologies 6890 N Gas Chromatograph with Auto Sampler and 5973i Mass Selective Detector and Chemstation data system* dengan kolom DB-5, ukuran kolom kapiler 60 m x 0,25 m, volume injeksi 1 µL, temperatur inlet 290°C, temperatur aux 290°C, temperatur program 70-290°C dan gas pembawa berupa helium.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola Pertumbuhan *Lyngbya* Sp.

Pertumbuhan dan perkembangan sel dapat dilakukan dengan mengamati fase pertumbuhannya. Pembuatan kurva pertumbuhan mikroalga *Lyngbya* sp. pada penelitian ini dilakukan dengan metode turbidimetri, yaitu dengan mengukur kekeruhan (*Optical Density*) kultur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 680 nm. Hal tersebut dikarenakan *Lyngbya* sp. merupakan jenis mikroalga yang berbentuk filamen dan multiseluler. Kurva pertumbuhan mikroalga *Lyngbya* sp. pada penelitian ini ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan mikroalga *Lyngbya* sp.

Gambar 1 menunjukkan bahwa fase logaritmik terjadi pada hari ke-8, 9 dan 10, sedangkan fase stasioner awal terjadi pada hari ke-11. Senyawa metabolit sekunder umumnya terbentuk setelah fase logaritmik atau pada fase stasioner. Saat fase stasioner tidak terjadi penambahan sel karena keterbatasan jumlah nitrogen pada medium pertumbuhan sehingga mengakibatkan penurunan kadar protein, karbohidrat dan lemak. Selain itu, pada fase stasioner juga terjadi keterbatasan perolehan cahaya yang dapat meningkatkan kandungan pigmen karotenoid dan asam lemak di dalam sel *Lyngbya* sp. Oleh karena itu, panen biomassa *Lyngbya* sp. dilakukan pada fase stasioner ini.

Ekstraksi Senyawa Antibakteri Mikroalga *Lyngbya* sp.

Ekstraksi dilakukan saat kultur mencapai fase stasioner awal. Biomassa *Lyngbya* sp. dipisahkan melalui sentrifugasi selama 15 menit berkecepatan 4300 rpm sehingga menghasilkan biomassa basah dengan bobot 10,320 g/L seperti ditunjukkan oleh Tabel 1.

Biomassa dari mikroalga *Lyngbya* sp. diekstraksi berdasarkan metode Naviner, *et al.* (1999). Ekstraksi biomassa dalam beberapa tahap menghasilkan ekstrak A, ekstrak B dan ekstrak C. Hasil ekstraksi dari kultur *Lyngbya* sp. yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1, masing-masing ekstrak A, ekstrak B, dan ekstrak C mempunyai bobot 6,001 g dan 0,502 g.

Tabel 1. Hasil ekstraksi mikroalga *Lyngbya* sp.

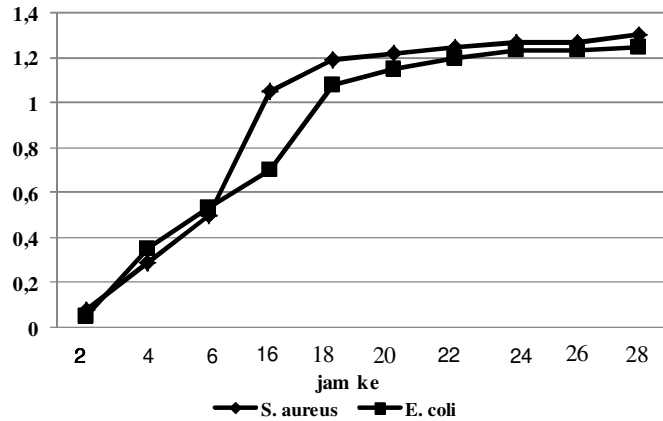
No	Bobot biomassa awal (g)	Ekstrak	Warna	Bobot ekstrak kering (g)
1	20,002	A	Hijau kecoklatan	6,001
2	-	B	Hijau kecoklatan	1,994
3	-	C	Hijau jernih	0,502

Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Tahap awal untuk melakukan uji aktivitas antibakteri adalah menentukan pola pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Kepadatan sel bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diukur dengan alat Spektrometri pada panjang gelombang 600 nm. Pola pertumbuhan yang didapat menunjukkan bahwa *S. aureus* mencapai fase logaritmik akhir pada jam ke-16, sedangkan *E. coli* pada jam ke-18. Oleh karena itu, pada uji aktivitas antibakteri, waktu inkubasi untuk *S. aureus* yang digunakan saat jam ke-16, sedangkan *E. coli* waktu jam ke-18 sebagaimana terlihat pada Gambar 2.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dengan pecadang cakram pada dua lapisan agar. Pada penelitian pendahuluan pengujian aktivitas antibakteri didasarkan pada perbedaan konsentrasi ekstrak mikroalga *Lyngbya* sp. yaitu 12000 bpj, 6000 bpj, 3000 bpj dan 1500 bpj namun hasil yang diperoleh tidak terbentuk zona hambat pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan hal tersebut maka untuk selanjutnya pengujian aktivitas antibakteri didasarkan pada perbedaan jumlah volume bakteri yang diinokulasikan ke dalam cawan petri yaitu 50 µL, 100 µL dan 150 µL. Hal ini dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak mikroalga *Lyngbya* sp. berpotensi sebagai antibakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak A dan B tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, sedangkan ekstrak C menunjukkan adanya zona hambat seperti diamati di Gambar 3. Tidak terbentuknya zona hambat pada ekstrak A dan B mungkin dikarenakan senyawa aktif pada ekstrak A dan B yang berpotensi sebagai antibakteri masih terhalang oleh senyawa lain, misalnya adanya senyawa polisakarida dan pigmen (klorofil, karotenoid dan pikosianin). Hal tersebut bisa terjadi kemungkinan karena pada tahap awal ekstraksi menggunakan pelarut etanol yang bersifat universal dan dapat melarutkan banyak senyawa. Kemungkinan lainnya adalah karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri konsentrasinya masih terlalu rendah pada kedua ekstrak tersebut. Hal ini karena pada saat uji aktivitas antibakteri, konsentrasi masing-masing ekstrak yang digunakan adalah sama.

Uji aktivitas ekstrak C pada pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menunjukkan bahwa semakin banyak

jumlah volume bakteri yang diinokulasikan ke dalam media uji, zona hambat yang diperoleh semakin kecil. Sebaliknya, semakin sedikit jumlah volume bakteri yang diinokulasikan ke dalam media uji maka zona hambat yang diperoleh semakin besar seperti tertera pada Tabel 2. Hal ini karena semakin banyak jumlah bakteri yang digunakan maka semakin besar kemampuan bakteri untuk menahan ekstrak uji sehingga zona hambat yang dihasilkan semakin kecil dan sebaliknya. Hal ini sesuai dengan penelitian Davis & Stout (1971) yang menyatakan bahwa konsentrasi inokulum yang ditambahkan ke dalam media uji dapat mempengaruhi ukuran zona hambat yang dihasilkan. Penelitian ini juga mendukung hasil riset Anwer & Abdulkarem (2014) yang menggunakan berbagai konsentrasi ekstrak etanol, metanol dan dietil eter dari *Lyngbya* sp. dimana terbukti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri uji (*S. aureus*, *E. coli* dan *B. subtilis*).



Gambar 3. Hasil uji aktivitas ekstrak A, B dan C terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Tabel 2. Diameter zona hambat uji aktivitas ekstrak A, ekstrak B dan ekstrak C terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

No	Bakteri Uji	Cawan Petri	Diameter Zona Hambat (mm)								
			Ekstrak								
			A			B			C		
			50 µL	100 µL	150 µL	50 µL	100 µL	150 µL	50 µL	100 µL	150 µL
1	<i>S. aureus</i>	1	-	-	-	-	-	-	15,20	12,30	7,50
		2	-	-	-	-	-	-	18,00	15,00	10,00
2	<i>E. coli</i>	1	-	-	-	-	-	-	14,70	8,50	7,20
		2	-	-	-	-	-	-	15,00	9,00	6,20

Keterangan: diameter kertas cakram 5,20 mm

Fraksinasi Ekstrak C

Tahap selanjutnya adalah fraksinasi terhadap ekstrak C dengan menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam silika gel G₆₀ dengan eluen CH₂Cl₂-etil asetat (1:1). Setelah dilakukan penyederhanaan fraksi dan uji aktivitas, fraksi 16 memberikan zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dibanding fraksi lainnya. Fraksi 18 tidak menunjukkan adanya zona hambat pada kedua bakteri uji sehingga kemungkinan jenis senyawa yang tersari pada fraksi 18 bukan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Sementara pada fraksi 19 dan 20, zona hambat hanya ditunjukkan terhadap bakteri *S. aureus* saja. Berdasarkan Kumalasari, *et al.*, (2014), asam 9,12-oktadekadienoat (asam linoleat), asam heksadekanoat (asam palmitat), asam dodekanoat (asam laurat) dari *Chlorella* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* sehingga kemungkinan senyawa aktif yang ada di fraksi 19 dan 20 adalah senyawa-senyawa tersebut sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 3.

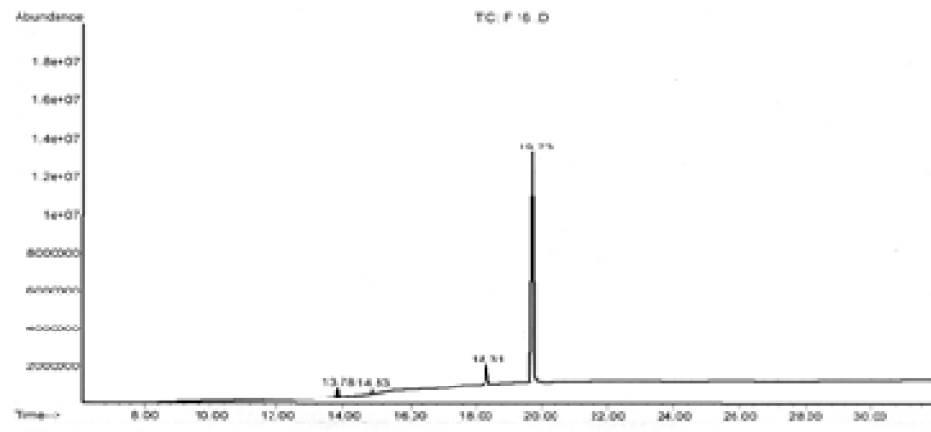
Pelarut diklorometan dan atau pelarut diklorometan: etil asetat (2:2) merupakan kontrol negatif dalam uji aktivitas antibakteri untuk menunjukkan bahwa bila ada aktivitas antibakteri bukan disebabkan oleh pelarut tersebut. Antibiotik kloramfenikol yang mempunyai spektrum luas digunakan sebagai kontrol positif untuk membandingkan apakah mikroalga *Lyngbya* sp. yang digunakan sebagai larutan uji mempunyai aktivitas antibakteri sebanding atau lebih kecil dari diameter zona hambat antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Respon yang berbeda dari dua jenis bakteri terhadap senyawa dalam fraksi 16 diduga karena adanya perbedaan kepekaan pada *S. aureus* dan *E. coli* terhadap senyawa antibakteri yang terkandung pada fraksi 16. Zona hambat yang lebih luas pada *S. aureus* menunjukkan bahwa organisme ini lebih sensitif terhadap zat uji. Hal tersebut dimungkinkan karena pada *S. aureus* dinding selnya memiliki lapisan tunggal (*monolayer*) dengan kandungan lemak rendah (1-4%) serta mempunyai lapisan peptidoglikan sebagai

Tabel 3. Diameter zona hambat uji aktivitas fraksi-fraksi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

No	Bakteri Uji	Cawan Petri	Diameter Zona Hambat (mm)				
			Fraksi				
			16	17	18	19	20
1	<i>S. aureus</i>	1	30,30	23,00	-	22,20	15,50
		2	30,20	23,40	-	22,20	15,40
2	<i>E. coli</i>	1	15,00	-	-	-	-
		2	15,00	-	-	-	-

Keterangan: diameter kertas cakram 5,20 mm



Gambar 4. Kromatogram kromatografi gas fraksi 16 ekstrak C

lapisan tunggal lebih dari 50% berat kering sehingga senyawa antibakteri kemungkinan mudah terabsorpsi. Sementara pada *E. coli* dinding selnya memiliki tiga lapisan (*multilayer*) dengan kandungan lemak tinggi (11-22%) dan mempunyai lapisan peptidoglikan di dalam lapisan kaku sekitar 10% berat kering sehingga menyebabkan senyawa antibakteri sulit terabsorpsi (Todar, 2012).

Hasil yang sama diperoleh dari penelitian yang dilakukan oleh Agoramoorthy, *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa bakteri Gram-positif lebih rentan daripada bakteri Gram-negatif. Demikian pula halnya dengan hasil penelitian Özçelik, *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan sensitivitas asam lemak antara bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Adanya impermeabilitas membran luar bakteri Gram-negatif yang merupakan penghalang efektif terhadap zat hidrofobik mengakibatkan bakteri Gram-negatif lebih resisten terhadap inaktivasi oleh asam lemak rantai menengah dan panjang dibandingkan bakteri Gram-positif.

Identifikasi Senyawa Antibakteri *Lyngbya* sp. dengan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa

Identifikasi dengan kromatografi gas-spektrometer massa (KG-SM) dilakukan terhadap fraksi teraktif yang dapat menghambat bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* yaitu fraksi 16. Kromatogram fraksi 16 menunjukkan adanya satu puncak yang dominan dengan waktu retensi 19,73 menit dan satu puncak dengan intensitas rendah dengan waktu retensi 18,31 menit yang menunjukkan bahwa fraksi 16 masih merupakan campuran dua senyawa seperti ditunjukkan pada Gambar 4.

Setiap senyawa hasil pemisahan tersebut kemudian dianalisis lebih lanjut dengan spektrometer massa untuk mengetahui bobot molekul dan spektra fragmentasinya yang kemudian dibandingkan dengan spektra fragmentasi senyawa yang terdapat dalam sistem database WILEY 7n.1, serta dipilih senyawa yang memiliki kemiripan lebih besar atau sama dengan 90%. Hasil analisa KG-SM menunjukkan bahwa fraksi 16 mengandung senyawa golongan asam

Tabel 4. Hasil identifikasi fraksi 16 dengan KG-SM

No	Rt (menit)	Kemungkinan Nama Senyawa	Rumus Molekul	Bobot Molekul	Mirip (%)
1	19,73	asam ftalat (bis(2 etil heksil) ftalat 1,2 benzena asam karboksilat)	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	91
2	18,31	asam adipat (asam heksanadioat bis(2 etil heksil) ester)	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	370	93

lemak yaitu asam ftalat (bis(2 etilheksil) ftalat 1,2 benzena asam karboksilat) dan asam adipat (asam heksanadioat bis(2etil heksil)ester) seperti ditunjukkan pada Tabel 4.

Berdasarkan *database* WILEY 7n.1 spektra fragmentasi senyawa dengan waktu retensi (Rt) 19,73 menit memiliki kemiripan 91% dengan spektra fragmentasi senyawa asam ftalat (bis(2 etilheksil)ftalat 1,2 benzena asam karboksilat) dengan ion molekul m/z 390 yang merupakan bobot molekul senyawa. Sementara *database* WILEY 7n.1 spektra fragmentasi senyawa dengan waktu retensi (Rt) 18,31 menit memiliki kemiripan 93% dengan spektra fragmentasi senyawa asam adipat (asam heksanadioat bis(2 etil heksil)ester) dengan puncak ion molekul m/z 370 yang merupakan bobot molekul senyawa.

Komponen lipid yang terdapat di dalam mikroalga dapat diklasifikasikan berdasarkan polaritasnya antara lain lipid non-polar (lipofilik), rantai karbon (asam lemak) lipid polar (hidrofilik) dan lainnya (kelompok karboksilat, alkohol, dan gula) (Becker, 1994). Bila menyimak tahap-tahap ekstraksi metode Naviner, *et al.* (1999) maka senyawa aktif antibakteri yang ada dalam fraksi 16 lebih cenderung asam ftalat dengan waktu retensi (Rt) 19,73 menit sebagai asam lemak bebas. Hal ini diperkuat dengan kenyataan bahwa luas puncak senyawa Rt=19,73 menit lebih besar dari pada luas puncak senyawa Rt=18,31 menit.

Bila ada senyawa ester di dalam mikroalga maka senyawa tersebut telah terhidrolisis terlebih dahulu pada tahap ekstraksi yaitu dengan adanya penambahan NaOH 0,5 N. Oleh karena itu, senyawa ester tidak akan ditemukan pada tahap analisis kromatografi gas-spektrometer massa. Penelitian ini mendukung hasil yang telah dilakukan oleh Devi & Mehta (2016) yang menyatakan bahwa ekstrak diklorometan dari alga hijau-biru mengandung asam ftalat yang berpotensi sebagai antibakterial, antialga hijau-biru, dan antifungal.

4. KESIMPULAN

Mikroalga *Lyngbya* sp. mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil karakterisasi dan identifikasi senyawa aktif tersebut adalah asam ftalat.

UCAPAN TERIMA KASIH.

Pada kesempatan ini, kami mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. Swasono S. Tamat yang telah memberikan beberapa saran dan masukan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoramoorthy, G., Chandrasekaran, M., Venkatesalu, V., & Hsu, M.J. (2007). Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye mangrove from India. [Electronic version]. *Braz. J. Microbiol.*, 38(4), 739-742.
- Anwer, S.S. & Abdulkareem, P.M. (2014). Antibacterial activity of *Lyngbya* and *Chroococcus* species isolated from Koya (Hizooop River). *Journal of Life Sciences*, 8, 925-930.
- Becker, E.W. (1994). *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. New York: Cambridge University Press.
- Cyanosite (2009). Cyanophyceae medium. <http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/cyanophycean.html>. Diakses 7 Maret 2009.
- Davis, W.W. & Stout, T.R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*, 22 (4), 666-670.
- Desbois, A.P. & Smith, V.J. (2010). Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6), 1629-1642.
- Devi, K.M. & Mehta, S.K. (2015). Screening of blue-green algae *Lyngbya* for antibacterial activities. *Science Vision*. 15(3), 98-105.
- Keithellakpam, O.S., Nath, T. Onkar., Oinam, A.S., Thingujam, I., Oinam, G., &

- Dutt, S.G. (2015). Effect of external pH on alga hijau-birul phycobiliproteins production and ammonium excretion. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 3(4), 38-42.
- Kumalasari, D., Fasya, A.G., Adi, T.K., & Maunatin, A. (2014). Uji aktivitas antibakteri asam lemak hasil hidrolisis mikroalga *Chlorella* sp. *Alchemy*, 3(2), 163-172.
- Naviner, M., Bergeb, J.P., Durandb, P., & Brisa, H.L. (1999). Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural pathogens. *Journal Aquacultural*. 174(1-2),15-24.
- Özçelik, B., Aslan, M., Orhan, I., & Karaoglu, T. (2005). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophilic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiol. Res.*, 160(2), 159-164.
- Santhosh, S., Dhandapani, R., & Hemalatha, N. (2016). Bioactive compounds from Microalgae and its different applications-a review. *Advances in Applied Science Research*, 7(4), 153-158.
- Shannon, E. & Nissreen A.G. (2016). Antibacterial derivatives of marine algae: An Overview of pharmacological mechanisms. *Mar. Drugs*, 14(4), doi:10.3390/md14040081.
- Todar, Kenneth. (2012). *Structure and Function of Bacterial Cells*. Online Textbook of Bacteriology. http://textbookofbacteriology.net/structure_4.html. Diakses tanggal 20 Januari 2017.
- Vanden Berghe, D.A., & Vlietinck, A.J. (1991). Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. In: Dey, P.M., Harbone, J.D. (eds), *Methods in Plant Biochemistry* (pp. 47-69). London: Academic Press.