

Aktivitas Antibakteri Senyawa Fikobiliprotein dari Mikroalga Hijau

Anindita Tri Kusuma Pratita, Saeful Amin^{*}, Mochammad Fathurohman, Shofani Aulia Subela
Fakultas Farmasi Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, Jl. Cilolohan No. 36, 321013,
Tasikmalaya, Indonesia

*Corresponding author: saefulamin@universitas-bth.ac.id

Abstract

Indonesia is a tropical country that has the potential of marine natural resources and has a very wide biodiversity. Potential biological resources that have not been widely explored are microalgae. Green microalgae can live in fresh, marine or brackish waters. Microalgae produce compounds such as proteins, carbohydrates and fats and have a high protein content. The protein derivative is phycobiliprotein with its activity as an antibacterial. This study aims to determine the antibacterial activity of phycobiliprotein compounds from green microalgae. The supernatant from microalgae cultivation was extracted using aquaproinjection to produce an extract yield of 0.0603 ± 0.0012 g/mL. Test bacteria using gram negative (*Escherichia coli*) and gram positive (*Staphylococcus aureus*). With Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Kill Rate Value of Phycobiliprotein Extract with bacterial inhibition *Escherichia coli* 6% and 12% as well *Staphylococcus aureus* 8% and 14%. From the results of the antibacterial activity test, the phycobiliprotein compound has strong antibacterial activity with an inhibition zone diameter of 10-20 mm.

Keywords: Microalgae, Green, Phycobiliprotein, Activity, Antibacterial.

Abstrak

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki potensi sumber daya alam kelautan dan memiliki keanekaragaman hayati yang sangat luas. Sumber daya hayati yang potensial belum banyak dieksplorasi adalah mikroalga. Mikroalga hijau dapat hidup baik diperairan tawar, laut ataupun payau. Mikroalga menghasilkan senyawa seperti protein, karbohidrat dan lemak serta memiliki kandungan protein yang tinggi. Turunan protein adalah fikobiliprotein dengan aktivitas nya sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa fikobiliprotein dari mikroalga hijau. Supernatan dari hasil kultivasi mikroalga diekstraksi menggunakan aquaproinjeksi menghasilkan rendemen ekstrak sebanyak $0,0603 \pm 0,0012$ g/mL. Bakteri uji menggunakan gram negatif (*Escherichia coli*) dan gram positif (*Staphylococcus aureus*). Dengan Konsentrasi Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum dari Ekstrak Fikobiliprotein dengan hambat bakteri *Escherichia coli* 6% dan 12% serta *Staphylococcus aureus* 8% dan 14%. Dari hasil uji aktivitas antibakteri senyawa fikobiliprotein memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dengan diameter zona hambat 10-20 mm.

Kata kunci: Mikroalga, Hijau, Fikobiliprotein, Aktivitas, Antibakteri

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki potensi sumber daya alam kelautan dan memiliki keanekaragaman hayati yang sangat luas. Sumber daya hayati yang potensial belum banyak dieksplorasi adalah mikroalga (Karseno *et al.*, 2013). Mikroalga dapat menghasilkan senyawa utama seperti protein, karbohidrat dan lemak (Novianti *et al.*, 2019).

Chlorella pyrenoidosa memiliki kandungan protein yang tinggi. Salah satu turunan protein adalah fikobiliprotein. Fikobiliprotein adalah kompleks pigmen dengan protein yang memiliki warna cerah, tidak beracun, larut air dan berfungsi sebagai penangkap cahaya untuk membantu dalam berlangsungnya proses fotosintesis. Fikobiliprotein diklasifikasikan menjadi tiga kelompok, yaitu fikosianin (pigmen biru), allofikosianin (pigmen hijau kebiruan) dan fikoeitrin (pigmen merah) Pigmen ini diketahui

memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, antiinflamasi dan dapat digunakan sebagai pewarna alami (Meneses *et al.*, 2013).

Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membrane sel, penghambatan terhadap sintesis protein dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu zat kimia yang dihasilkan oleh mikroba (Afriani *et al.*, 2017).

Fikobiliprotein dapat menghambat bakteri penyebab penyakit pada manusia. Dari hasil pengujian daya hambat senyawa fikobiliprotein dari *Spirulina plantensis* dengan konsentrasi 10% dengan zona hambat yang terbentuk 16,97 mm memiliki aktivitas kuat (Winahyu *et al.*, 2020). Mikroalga *Porphyridium cruentum* memiliki senyawa fikobiliprotein dengan konsentrasi 8% dengan zona hambat 6,04 mm digolongkan sedang (Anggraeni *et al.*, 2019).

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini bertujuan untuk melakukan meneliti mengenai aktivitas antibakteri fikobiliprotein dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang di ujikan pada bakteri gram negatif dan gram positif (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga hijau (*Chlorella pyrenoidosa*) yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, Natrium Klorida (Merck), Kalium Klorida (Merck), Kalsium Klorida (Merck), Magnesium Sulfat (Merck), Magnesium Klorida (Merck), Natrium Bikarbonat (Merck), Besi (iii) Klorida (Merck),

Etilenadiaminatetraasetat (PT DPH), dektrosa (PT Brataco), Kalium Nitrat (PT DPH), pupuk (TSP), serbuk ninhidrin, aquadest, Dimetil sulfoksida (Merck), Nutrient Agar (Oxoid), Mueller Hinton Agar (Oxoid), Mueller Hinton Broth (Microgen), Barium Klorida (Merck), Asam Sulfat (Merck) Amoksisilin (Merck).

Alat

Alat yang digunakan adalah botol kultur 1 Liter, lampu 19 watt (Philips), aerator, pH meter (Ohaus), haemocytometer, salinometer, pipa cabang, selang, kaca arloji, kaca objek, cover glass, mikroskop (IBS), vial, pipet tetes, sentrifugator (LC-04S), neraca digital (Excellent) alat-alat gelas laboratorium (prex), kertas saring, alumunium foil, kertas label, mikroskop (IBS), inkubator (Memmert), autoklaf (Biobase), Laminar Air Flow (Thermo), tabung sentrifus, tabung rekasi (prex) rak tabung reaksi, microplate 96 lubang (iwaki), batang pengaduk, freeze dry (Biobase), Spektrofotometer uv-vis (Genesys IOS UV-Vis), lemari es, mikropipet, jarum osce, cawan petri, spidol permanen, pinset.

Metode

Pembuatan Air Laut Buatan

Untuk membuat 1 liter air laut buatan dapat dilakukan penimbangan yaitu Natrium Klorida (NaCl) 24,6 gram; Kalium klorida (KCl) 0,6 gram; Kalsium Klorida (CaCl_2) 1,36 gram; Magnesium sulfat (MgSO_4) 6,2 gram; Magnesium Klorida (MgCl_2) 4,66 gram; dan Natrium bikarbonat (NaHCO_3) 0,18 gram, larutkan dalam aquadest dan bahan sampai homogen, kemudian disaring sampai terbebas dari partikel atau kotoran (Julianti *et al.*, 2018).

Pembuatan Nutrisi

Fungsi media pertumbuhan mikroalga yaitu untuk menumbuhkan dan berkembangbiak pada media tersebut. Bahan yang digunakan dalam media pertumbuhan mikroalga yaitu 33 gram FeCl, 35 gram EDTA, Dextrosa 45 gram, KNO_3 84 gram, 54 gram pupuk TSP dengan 18,9 gram EDTA. Kemudian dilarutkan dalam 1 liter aquadest dan disaring (Julianti *et al.*, 2018).

Kultivasi Mikroalga

Proses kultivasi dilakukan dalam botol kaca 1 Liter. Siapkan larutan medium pertumbuhan yang telah dibuat. Siapkan 450 mL Air Laut Buatan dan masukkan kedalam botol kaca 1 L, lakukan sterilisasi media pertumbuhan dan Air Laut Buatan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, air laut buatan suhunya menurun menjadi suhu ruang yaitu 20-30°C dan lakukan pengecekan pH. Tambahkan nutrisi ke dalam botol yang berisi Air Laut Buatan dan masukkan 450 mL indukan mikroalga ke dalam botol dan atur tingkat aerasi dan pencahayaan pada inokulasi dan amati pertumbuhan selama 14 hari. Kemudian dihitung kepadatan sel dengan menggunakan alat Haemasitometer dan Mikroskop Binokuler untuk mengetahui pertumbuhan sel mikroalga dengan rumus : (Julianti et al., 2018).

$$\text{Rumus kepadatan sel} = \frac{\Sigma A + \Sigma B + \Sigma C + \Sigma D}{4} \times 10^4$$

Keterangan :

$\Sigma A/B/C/D$ = Jumlah koloni pada bilik A,B,C,D

Isolasi Biomassa Basah

Setelah dilakukan proses kultivasi selama 14 hari, matikan aerasi dan pencahayaan, biarkan mikroalga mengendap selama 1 malam. Lakukan proses pemisahan dengan membuang air media pertumbuhan dan dilanjutkan dengan melakukan proses sentrifugasi terhadap endapan yang dihasilkan pada kecepatan 3.500 rpm selama 15 menit. Setelah itu simpan pellet hasil sentrifuga pada pendingin bersuhu -10°C (Puspita, 2020).

Ekstraksi Fikobiliprotein

Siapkan biomassa basah mikroalga sebanyak 1 gram, tambahkan pelarut aqua pro injection sebanyak 15 mL dan vortex campuran tersebut selama 20 detik dengan 3 kali pengulangan, lakukan proses pembekuan terhadap pellet yang diperoleh dalam freezer selama 24 jam, kemudian diamkan pada suhu 29°C. Setelah sampel mencair lakukan proses pemisahan dengan sentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 15 menit, sehingga diperoleh supernatant dan endapan. Supernatant tersebut merupakan ekstrak pigmen fikobiliprotein,

selanjutnya dikeringkan dengan metode pengeringan (*freeze drying*) (Hidayati et al., 2020).

Uji Kualitatif

Pengujian kualitatif fikobiliprotein dilakukan menggunakan pereaksi ninhidrin 0,1%. Pereaksi ninhidrin terbuat dari 0,1 gram serbuk ninhidrin dan 100 ml etanol 95%. Uji ninhidrin dilakukan dengan cara melarutkan sampel secukupnya dalam 1 mL aquabidest, masukkan kedalam tabung reaksi dan tambahkan 5 mL pereaksi ninhidrin. Campuran larutan tersebut dipanaskan didalam gelas kimia yang berisi air dengan suhu 100°C selama 15 menit. Pengujian dikatakan apabila positif maka akan terjadi perubahan warna larutan menjadi warna biru-ungu (Laksmiwati et al., 2019).

Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dicuci dengan air yang mengalir sampai bersih, kemudian dilakukan pengeringan di dalam oven pengering dan dihindarkan dari debu dan kotoran. Setelah dikeringkan untuk peralatan gelas (tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur) disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan jarum ose disterilisasi diatas lampu bunsen sampai pijar (Anggraeni et al., 2019).

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Aktivitas antibakteri ekstrak fikobiliprotein dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dengan metode mikrodilusi menggunakan *microplate*. Metode mikrodilusi merupakan metode yang direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) menggunakan metode mikro dilusi. *Microplate* terdiri dari 96 sumur, terdiri dari 12 kolom dan 8 baris. Masing-masing sumuran diisi dengan 50 μ L inokulum bakteri uji. Pada kolom 11 (kontrol negatif) berisi kontrol pelarut dan inokulum uji, pada kolom 12 (kontrol positif) berisi antibakteri dan inokulum bakteri uji. Pada kolom 1 sampai 10 ditambahkan larutan ekstrak yang telah diencerkan. *Microplate* diinkubasikan pada

suhu 38°C untuk mikroba uji bakteri selama 24 jam. KHM adalah konsentrasi terkecil di mana tidak ada pertumbuhan mikroba pada sumur yang digunakan dan diperoleh dengan pengamatan secara visual dari perbedaan kejernihan sumur (Kurniati *et al.*, 2017).

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Media agar MHA steril dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Sejumlah larutan diambil menggunakan jarum ose dari sumur pada plat mikrodilusi yang menunjukkan nilai KHM serta dari seluruh sumur lainnya yang berada di atas nilai KHM. Larutan tersebut kemudian digoreskan ke atas permukaan media agar yang telah dipersiapkan sebelumnya. Cawan petri diinkubasikan pada suhu 38°C untuk mikroba uji. Media agar yang menunjukkan visualisasi kejernihan dan tidak ditumbuhi bakteri ditetapkan sebagai KBM (Kurniati *et al.*, 2017).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi agar (*disc diffusion Kirby and Bauer*). Media yang digunakan untuk pengujian adalah media MHA (*Mueller Hinton Agar*) terhadap senyawa fikobiliprotein dari mikroalga Hijau (*Chlorella pyrenoidosa*) untuk pengujian terhadap bakteri gram positif (*Escherichia coli*) dengan konsentrasi 12%, 14%, 16% dan 18% dan gram negatif (*Staphylococcus aureus*) dengan konsentrasi 14%, 16%, 18% dan 20%. Suspensi bakteri diambil dengan *cotton bud* steril yang telah ditiriskan terlebih dahulu pada dinding tabung, kemudian ditanamkan pada media agar dengan metode *streak plate* (goresan cawan gores) dengan cara digoreskan secara kontinyu sampai setengah permukaan agar, membentuk garis horizontal disuatu cawan petri. Kemudian putar cawan 180° dan dilanjutkan goresan sampai habis. Pada cawan petri steril ditambahkan media agar dan biarkan memadat selama 15 menit. Kemudian diatas media yang telah digoreskan bakteri, selanjutnya diletakkan kertas cakram steril yang telah direndam selama 15 menit pada

suspensi mikroalga dan kontrol negatif. Diinkubasi pada suhu 37° selama 24 jam untuk bakteri. Setelah proses inkubasi selesai, dilanjutkan dengan mengukur diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong (Keintjem *et al.*, 2019).

Pada masing-masing kertas cakram ditambahkan 100 µL ke dalam botol vial 10 ml untuk pengujian kontrol positif dan kontrol negatif. Kemudian kertas cakram juga dicelupkan dengan menggunakan pinset ke dalam larutan kontrol positif berupa (amoksisilin) dan kontrol negatif berupa DMSO. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri. Setelah inkubasi, diameter hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong (Keintjem *et al.*, 2019).

Analisis Data

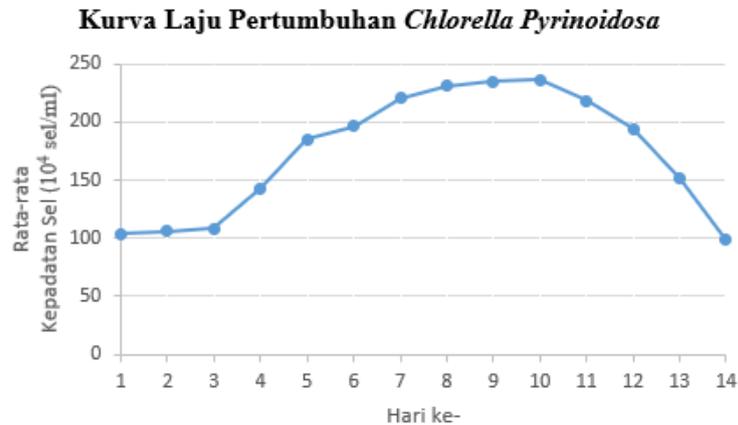
Data hasil uji aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan melihat dari luas zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak fikobiliprotein yang mengacu menurut (Utomo *et al.*, 2018), kriteria kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut :

- a. Daya hambat sangat kuat dengan diameter zona hambat lebih dari 20 mm.
- b. Daya hambat kuat dengan diameter zona hambat 10-20 mm.
- c. Daya hambat sedang dengan diameter zona hambat 5-10 mm.
- d. Daya hambat lemah apabila diameter zona hambat 0-5 mm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultivasi Mikroalga

Kultivasi mikroalga dilakukan bertujuan untuk memperbanyak jumlah sel mikroalga dalam media pertumbuhan, penambahan nutrisi pada media pertumbuhan berguna sebagai pakan serta untuk mempercepat dalam proses pertumbuhan mikroalga. Proses pengkulturan mikroalga dilakukan selama 14 hari dalam kurun waktu 12 jam gelap dan 12 jam terang, selama proses pengkulturan aerasi terus dilakukan kecuali pada proses pengambilan sampel untuk pertumbuhan kepadatan sel.



Gambar 1 Kurva Laju Pertumbuhan *Chlorella pyrinoidosa*

Laju pertumbuhan *Chlorella pyrinoidosa* selama 14 hari memiliki tujuh fase pertumbuhan, berdasarkan gambar 1 laju pertumbuhan dimulai dengan fase adaptasi yang berlangsung pada hari ke 1-2, pada hari ke 3 kurva kultivasi mikroalga fase perumbuhan awal dipercepat. Fase eksponensial terjadi pada hari ke 4-5. Selanjutnya pada hari ke 6 mengalami fase pertumbuhan diperlambat. Pada hari ke-7 mengalami fase stasioner. Pada hari ke 8-11 termasuk kedalam fase kematian dipercepat. Pada hari ke 12-14 mengalami fase kematian dan telah siap untuk dilakukan pemanenan (Istirokhatun *et al.*, 2017).

Isolasi Biomassa Basah

Isolasi biomassa basah bertujuan untuk memisahkan endapan mikroalga dengan larutan media pertumbuhan menggunakan teknik sentrifugasi. Setelah itu, dilakukan pemisahan antara pellet dan supernatan. Hasil rendemen rata-rata dari biomassa basah *chlorella pyrinoidosa* yaitu sebesar $0,0042 \pm 0,0007$ g/mL.

Ekstraksi Fikobiliprotein

Ekstraksi *Chlorella pyrinoidosa* dimulai dengan proses isolasi biomassa basah. Setelah dilakukan proses pemisahan, pellet yang diperoleh tersebut di ekstraksi menggunakan metode *freeze-thawing*. *Freeze-thawing* merupakan metode ekstraksi paling efisien untuk fikobiliprotein yang diambil dari biomassa basah (Hidayati *et al.*, 2020). *Freeze-thawing*

merupakan gabungan dari dua tahap, yaitu pembekuan dan pencairan. Pembekuan dilakukan selama 24 jam dalam *freezer* dan pencairan dilakukan sampai larutan mencair pada suhu ruang. Proses pembekuan mengakibatkan terjadinya pembentukan es intraseluler yang menyebabkan pecahnya dinding sel (Widyastuti & Dewi, 2015) dan proses pencairan dapat menyebabkan kontraksi seluler (Julianti *et al.*, 2018). Tujuan dari metode ini adalah untuk memberikan stressing pada sel untuk mempercepat pengeluaran pigmen dari dalam sel (Istirokhatun *et al.*, 2017). Proses *freeze thawing* -10°C dan pada suhu 29°C menyebabkan sel pecah (*lysis*) dan mengeluarkan fikobiliprotein (Hidayati *et al.*, 2020). Pelarut yang akan digunakan merupakan hal penting dalam proses ekstraksi. Pelarut harus sesuai dengan kemampuan dalam melarutkan senyawa tujuan, agar dapat diperoleh jumlah yang maksimum (Rahmawati, 2017). Fikobiliprotein merupakan pigmen yang bersifat polar, sehingga harus menggunakan pelarut yang bersifat polar. Pelarut untuk ekstraksi fikobiliprotein adalah aqua pro injeksi (Hidayati *et al.*, 2020). Aqua pro injeksi juga digunakan karena lebih ekonomis dan tidak bersifat toksik (Karseno *et al.*, 2013). Filtrat hasil penyaringan tersebut kemudian dikeringkan menggunakan *freeze drying*. Kelebihan dari proses *freeze drying* ini adalah hasil pengeringan yang dilakukan tidak

menyebabkan keriput pada permukaan bahan yang dikeringkan. Selain itu juga pengeringan ini tidak menyebabkan perubahan warna pada produk, dan mudah untuk melakukan penyegaran kembali setelah dikeringkan (Mayasari *et al.*, 2019). Pengeringan dengan teknik *freeze drying*, bertujuan untuk mempertahankan stabilitas fikobiliprotein akan stabil apabila disolasi pada kondisi suhu rendah karena *chromoprotein* (polipeptida α dan β) sensitif terhadap suhu, sehingga hancurnya sel tidak di ikuti dengan proses denaturasi. Denaturasi merupakan suatu proses terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam dan terbukanya lipatan molekul protein. Suhu inkubasi yang digunakan pada ekstraksi pigmen fikobiliprotein adalah -56°C , karena fikobiliprotein mudah teroksidasi apabila terpapar intensitas panas dan cahaya yang tinggi, serta untuk mempertahankan warna dari fikobiliprotein (Farihah *et al.*, 2014). Nilai rata-rata rendemen ekstraksi fikobiliprotein hasil pengeringan $0,0603 \pm 0,0012 \text{ g/mL}$.

Uji Kualitatif

Fikobiliprotein merupakan senyawa kompleks pigmen protein yang memiliki peran penting dalam proses fotosintesa tumbuhan alga (Hidhayati *et al.*, 2020). Sehingga dapat

dilakukan analisis protein, salah satunya yaitu dengan pengujian ninhidrin. Pada uji ninhidrin bertujuan untuk membuktikan keberadaan asam amino bebas dalam zat yang diuji. Senyawa ninhidrin yang bersifat oksidasi tinggi menyebabkan terjadinya dekarboksilasi oksidatif terhadap α -amino, menghasilkan hidrindantin, CO_2 , NH_3 , dan aldehid.

Bergabungnya senyawa NH_3 , hidrindantin dan ninhidrin tersebutlah yang memberikan warna biru/ungu pada larutan (Lestari *et al.*, 2019). Berdasarkan pengujian yang dilakukan terhadap serbuk ekstrak fikobiliprotein diketahui bahwa sampel positif mengandung protein. Ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi ungu.

Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Fikobiliprotein Terhadap Bakteri

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan salah satu metode uji yang digunakan untuk mengetahui daya hambat minimum suatu zat bioaktif dalam menghambat mikroalga suatu jenis bakteri uji, terhadap gram negatif (-) dan gram positif (+). Penentuan KHM dilakukan pada ekstrak Fikobiliprotein terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Berikut adalah Nilai KHM Ekstrak Fikobiliprotein Terhadap Bakteri Uji. Dapat dilihat pada **tabel 1**

Hasil yang diperoleh dari pengujian ekstrak fikobiliprotein terhadap bakteri uji memberikan hasil yang berbeda. Hasil uji KHM pada ekstrak fikobiliprotein bakteri *Escherichia coli* memiliki nilai KHM pada konsentrasi 6% dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* 8%. Sedangkan pada amoksisilin sebagai kontrol positif tidak terlihat adanya kekeruhan pada setiap pengujian yang menandakan amoksisilin dapat menghambat pertumbuhan bakteri serta untuk kontrol negatif pelarut DMSO tidak menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan adanya kekeruhan pada setiap pengujian.

Tabel 1 Nilai KHM Ekstrak Fikobiliprotein Terhadap Bakteri Uji

Konsentrasi (%)	Nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
0	+	+
2	+	+
4	+	+
6	-	+
8	-	-
10	-	-
12	-	-
14	-	-
16	-	-
18	-	-
20	-	-
Amoksisilin (+)	-	-
DMSO (-)	+	+

Keterangan : keruh (+), bening (-)

Hasil Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak Fikobiliprotein Terhadap Bakteri

Kadar Bunuh Minimum (KBM) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah yang mampu membunuh seluruh pertumbuhan bakteri dan ditetapkan pada konsentrasi yang memberikan

zona jernih tanpa pertumbuhan bakteri pada media agar dengan pengamatan secara visual (Efendi, 2013). Berikut adalah Nilai KBM Ekstrak Fikobiliprotein. Dapat dilihat pada **tabel 2**

Tabel 2 Nilai KBM Ekstrak Fikobiliprotein terhadap bakteri uji

Konsentrasi (%)	Nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
0	+	+
2	+	+
4	+	+
6	+	+
8	+	+
10	+	+
12	-	+
14	-	-
16	-	-
18	-	-
20	-	-
Amoksisilin (+)	-	-
DMSO (-)	+	+

Keterangan : keruh (+), bening (-)

Penentuan nilai KBM merupakan pengujian lanjutan yang dilakukan setelah memperoleh hasil uji KHM, dengan cara menggoreskan hasil uji KHM sebelumnya pada media agar dalam cawan petri. Konsentrasi ekstrak fikobiliprotein yang digoreskan adalah konsentrasi secara visual yang memberikan hasil bening atau tidak adanya kekeruhan (Aristyawan *et al.*, 2018). Hasil yang didapat untuk bakteri *Escherichia coli* 12% dan bakteri *Staphylococcus aureus* 14%.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan hasil uji antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Metode difusi agar dipilih karena metode ini Kontrol negatif yang digunakan adalah Dymethyl Sulfoxide (DMSO), sedangkan kontrol positifnya adalah (amoksisilin). Berikut adalah Diameter Zona Hambat terhadap *Escherichia coli* dan Diameter Zona Hambat

relatif lebih sederhana dan hasil yang didapat cukup teliti untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri. Hasil uji KHM pada ekstrak fikobiliprotein bakteri *Escherichia coli* memiliki nilai 6% dan pada bakteri *Staphylococcus aureus* 8% . Kemudian dilakukan pengujian KBM dengan cara menggoreskan hasil uji KHM pada media agar dalam cawan petri. Konsentrasi ekstrak yang digoreskan adalah konsentrasi secara visual yang memberikan hasil bening atau tidak adanya kekeruhan (Aristyawan *et al.*, 2018). Hasil yang didapat untuk bakteri *Escherichia coli* 12% dan bakteri *Staphylococcus aureus* 14%. Konsentrasi yang optimal pada pengujian ini didapatkan pada konsentrasi 12% - 18% untuk *Escherichia coli* serta 14% - 20% untuk *Staphylococcus aureus*.

terhadap *Staphylococcus aureus*. Dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Tabel 4**

Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	Kategori
12	10,8	Kuat
14	11,2	Kuat
16	12,2	Kuat
18	12,7	Kuat
Amoksisilin (+)	23	Sangat Kuat
DMSO (-)	5,1	Sedang

Tabel 3 Diameter Zona Hambat terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi (%)	Zona Hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Kategori
14	11,9	Kuat
16	12,6	Kuat
18	13,2	Kuat
20	15,0	Kuat
Amoksisilin (+)	24,2	Sangat Kuat
DMSO (-)	6,3	Sedang

Tabel 4 Diameter Zona Hambat terhadap *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan besar penghambatan yang diperoleh, ekstrak fikobiliprotein dari mikroalga hijau (*Chlorella pyrenoidosa*) lebih mudah menghambat bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dibandingkan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan struktur membran sel bakteri. Bakteri Gram negatif mempunyai dua sel membran, yaitu membran luar dan membran dalam, sedangkan bakteri Gram positif hanya memiliki membran luar. Fikobiliprotein antibakteri yang diduga memiliki mekanisme aksi pada membran sel bakteri, akan lebih sulit dalam merusak membran bakteri Gram negatif. Pada bakteri Gram negatif, dalam menjalankan aktivitasnya, fikobiliprotein harus berikatan dengan kedua membran tersebut (membran luar dan membran dalam). Kemampuan fikobiliprotein membunuh bakteri, bakteri gram negatif lebih ditentukan oleh gangguan pada membran dalam. Sebaliknya, pada bakteri Gram positif yang hanya memiliki membran luar menyebabkan kerja fikobiliprotein lebih mudah, dimana fikobiliprotein antibakteri hanya harus mengganggu permeabilitas satu lapis membran dari Gram positif. Mekanisme kerja ini juga berlaku bagi fikobiliprotein yang memiliki mekanisme aksi pada bagian dalam sel bakteri. Sebelum memasuki bagian dalam sel fikobiliprotein akan lebih sulit menembus membran bakteri Gram negatif dari pada Gram positif. Oleh karena itu, daya hambat antibakteri ekstrak fikobiliprotein lebih besar pada bakteri Gram positif dari pada bakteri Gram negatif.

Hasil yang berbeda disebabkan karena kemampuan setiap bakteri dalam melawan aktivitas antibakteri berbeda-beda bergantung ketebalan dan komposisi dinding selnya. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentasinya lebih tinggi dari pada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis dibanding bakteri gram positif. Struktur bakteri gram negatif memiliki membran lapisan luar yang menyelimuti lapisan tipis peptidoglikan, struktur luar peptidoglikan ini adalah lapisan ganda yang mengandung fosfolipid, protein dan lipopolisakarida.

Lipopolisakarida terletak pada lapisan luar dan merupakan karakteristik bakteri gram negatif. Sementara sel bakteri gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dimana di dalamnya mengandung senyawa teikoat dan lipoteikoat. Penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas ekstrak fikobiliprotein dari Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang berpotensi membunuh bakteri.

KESIMPULAN

Ekstrak Fikobiliprotein dari mikroalga hijau (*Chlorella pyrenoidosa*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat berdasarkan nilai KHM dan KBM. Nilai KHM Mikroalga Hijau (*Chlorella pyrenoidosa*) terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 6% dan KBM 12% pada zona hambat 10,8 mm dengan kategori kuat, sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki nilai KHM dengan konsentrasi 8% dan KBM 14% pada zona hambat 11,9 mm dengan kategori kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan selesainya penelitian ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada kampus Tercinta Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, teman-teman yang telah memberikan motivasi serta bantuan dan dukungan bahkan tenaga dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, N., Yusmarini, & Pato, U. (2017). Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang Diisolasi dari Industri Pengolahan Pati Sagu terhadap Bakteri Patogen *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. *Jom Faperta*, 4(2), 1–12.
- Anggraeni, V. J., Wahyu, T. S., Kusriani, H., & Kurnia, D. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Mikroalga *Thalassiosira* sp Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne*. *Jurnal Kimia*

- Riset, 4(1), 62. <https://doi.org/10.20473/jkr.v4i1.13314>
- Aristyawan, A. D., Sugijanto, N. E., & Suciati, S. (2018). Potensi Antibakteri dari Ekstrak Etanol Spons *Agelas cavernosa*. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(1), 39. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v4i12017.39-43>
- Fariyah, S., Yulianto, B., & Ervia, Y. (2014). Penentuan Kandungan Pigmen Fikobiliprotein Ekstrak *Spirulina plantesis* Dengan Teknik Ekstraksi Berbeda dan Uji Toksisitas Metode BSLT. *Journal of Marine Research*.
- Hidayati, N., Agustini, N. W. S., Apriastini, M., & Margaretha, C. (2020). Potensi Pigmen Fikobiliprotein Sebagai Agen Antioksidan dan Toksisitas Hayati dari Sianobakteria *Chroococcus turgidus* (Potency of Phycobiliprotein Pigment as Antioxidant and Biological Toxicity Agents from Cyanobacteria *Chroococcus turgidus*). *Biopropal Industri*, 11(1), 41.
- Istirokhatun, T., Aulia, M., & Utomo, S. (2017). Potensi *Chlorella* sp. Untuk Menyisihkan COD dan Nitrat Dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Presipitasi : Media Komunikasi Dan Pengembangan Teknik Lingkungan*, 14(2), 88. <https://doi.org/10.14710/presipitasi.v14i2.88-96>
- Juliana Anggraeni, V., Arip Nugraha, F., & Suhardiman, A. (2019). Aktivitas Antibakteri dari Mikroalga Laut *Porphyridium cruentum* terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne*. *Jurnal Agrotek Ummat*, 6(2), 63. 7
- Julianti, E., Fathurohman, M., Damayanti, S., & Kartasasmita, R. E. (2018). Isolate of Heterotrophic Microalgae As a Potential Source for Docohexaenoic Acid (Dha). *Marine Research in Indonesia*, 43(2), 79–84. <https://doi.org/10.14203/mri.v43i2.264>
- Karseno, Handayani, I., & Setyawati, R. (2013). Aktivitas Dan Stabilitas Antioksidan Ekstrak Pigmen Alga. *Agritech*, 33(4), 371–376.
- Keintjem, B., Wewengkang, D. S., & Fatimawali, F. (2019). Aktivitas Penghambatan Pertumbuhan Mikroorganisme dari Ekstrak dan Fraksi Alga *Ulva lactuca* Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. *Pharmakon*, 8(2), 397. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29306>
- Kurniati, N. F., Garmana, A. N., & Aziz, N. (2017). Aktivitas Antibakteri Dan Antijamur Ekstrak Etanol Akar, Bunga, Dan Daun Turi (*Sesbania Grandiflora* L. Poir). *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 42(1), 1–8.
- Laksmiwati, A. A. I. A. M., Prastika, H. H., Ratnayani, K., & Puspawati, N. M. (2019). Penggunaan Enzim Pepsin untuk Produksi Hidrolisat Protein Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang Aktif Antioksidan. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 7(2), 180–188.
- Lestari, N. K. L., Suardana, I. W., & Sukrama, I. D. M. (2019). Karakteristik Fisikokimia dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteriosin dari Isolat Bakteri Asam Laktat 15B hasil Isolasi Kolon Sapi Bali. *Buletin Veteriner Udayana*, 21, 65. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2019.v11.i01.p11>
- Mayasari, N. R., Karseno, K., & Setyawati, R. (2019). Identifikasi Pigmen Fikobiliprotein Pada *Kappaphycus Alvarezii* Dalam Pelarut Buffer Fosfat Dengan Metode Freeze Thaw Cycle. *Jurnal Mitra Kesehatan*, 1(2), 87–94. <https://doi.org/10.47522/jmk.v1i2.17>
- Meneses, N. G. T., Martins, S., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2013). Influence of Extraction Solvents on The Recovery of Antioxidant Phenolic Compounds From Brewer's Spent Grains. *Separation and Purification Technology*, 108, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.02.015>
- Novianti, T., Zainuri, M., & Widowati, I. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella vulgaris* yang Dikultivasi Berdasarkan Sumber Cahaya yang Berbeda. 1(2), 72–87.
- Nurullaili Efendi, Y., & Hertiani, T. (2013). Antimicrobial Potency of Ant-Plant Extract (*Myrmecodia Tuberosa* Jack.) Against

- Candida Albicans, Escherichia Coli, and Staphylococcus Aureus Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodiatuberosa* Jack.) Terhadap Candida Albicans, Escherichia . *Traditional Medicine Journal*, 18(1), 2013.
- Puspita, D. E. N. E. I. M. T. (2020). Isolasi, Identifikasi Dan Uji Produksi Yeast Yang Diisolasi Dari Nira Kelapa. *Jurnal Biologi Dan Pendidikan Biologi*, 5(1), 1–5. <https://journal.unpas.ac.id/index.php/biosfer/article/view/2395>
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Antibacterial Activity Test of the C-4-methoxyphenylcalix[4]resorcinarene Compound Modified by Hexadecyltrimethylammonium-Bromide against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 3(3), 201. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v3i3.22742>
- Widyastuti, R., & Dewi, C. (2015). Sintesis Biodiesel dari Minyak Mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan Reaksi Transesterifikasi menggunakan katalis KOH. *Jbat*, 4(1), 29–33. <https://doi.org/10.15294/jbat.v3i1.3099>
- Winahyu, D. A., Retnaningsih, A., & Koriah, S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Spirulina platensis* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acne* Dengan Metode Difusi Agar. *Mandi Malam Menyebabkan Rheumatoid Arthritis (Rematik): Telaah Singkat Eka*, 5(2), 3–9.