

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL MIKROALGA *Chlorella sp.* HASIL KULTIVASI DALAM MEDIUM EKSTRAK TAUGE (MET) PADA TIAP FASE PERTUMBUHAN

A. Ghanaim Fasya<sup>1</sup>, Umi Khamidah<sup>1</sup>, Suci Amaliyah<sup>1</sup>, Siti Khairul B.<sup>1</sup>, dan Romaidi<sup>2</sup>

(1) Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

(2) Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

### ABSTRACT

*Chlorella sp.* is one of microalgae Chlorophyta that containing kinds of important compound such as flavonoid, tannin, phenolic compound, terpenoid, chlorophyll and carotenoid. The purpose of this research are to know antibacterial activity from extract of microalgae *Chlorella sp.* result from extraction with methanol solvent at each growth phase and to know contains of active compound group in extract of microalgae *Chlorella sp.* *Chlorella sp.* was cultivated in Tauge Extract Medium (TEM) 4 % and harvesting of at  $\frac{1}{2}$  exponential phase,  $\frac{3}{4}$  exponential phase, early stationary phase, stationary phase, and end of stationary phase. Extraction microalgae *Chlorella sp.* was estimated by maceration method using methanol solvent. Extraction microalgae *Chlorella sp.* was performed by maceration with methanol solvent. Methanol extract from each phase were tested antibacterial activity used diffusion method toward *E. coli* and *S. aureus* bacterium. Identification of active compound was estimated by reagent tested on qualitative scale include alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, and tannin. The result showed that methanol extract of *Chlorella sp.* which has higher antibacterial activity is stationary phase with inhibition zone 9,9 mm toward *E. coli* and 12,0 mm toward *S. aureus*. The results of the identification of the compound methanol extract of microalgae *Chlorella sp.* contains a steroid and tannin compound class.

**Keywords :** *Chlorella sp.* Antibacterial, Tauge Extract Medium

### ABSTRAK

*Chlorella sp.* merupakan salah satu jenis mikroalga Chlorophyta yang mengandung berbagai senyawa penting yang seperti flavonoid, tanin, senyawa fenolik, terpenoid, klorofil dan karotenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* hasil ekstraksi dengan pelarut metanol pada tiap fase pertumbuhan serta untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif dalam ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* *Chlorella sp.* dikultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) 4 %. Pemanenan *Chlorella sp.* dilakukan pada fase  $\frac{1}{2}$  eksponensial, fase  $\frac{3}{4}$  eksponensial, fase awal stasioner, fase stasioner, dan fase akhir stasioner. Ekstraksi mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol dari masing-masing fase diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Identifikasi golongan senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan uji reagen secara kualitatif yang meliputi alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, dan tanin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Chlorella sp.* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah pada fase stasioner dengan zona hambat sebesar 9,9 mm terhadap bakteri *E. coli* dan 12,0 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Hasil identifikasi golongan senyawa aktif menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Chlorella sp.* mengandung golongan senyawa steroid dan tanin.

**Kata Kunci :** *Chlorella sp.*, Antibakteri, Medium Ekstrak Tauge.

### I. PENDAHULUAN

Mikroalga adalah mikroorganisme fotosintetik dengan morfologi sel yang bervariasi, baik uniseluler maupun multiseluler (membentuk koloni kecil) (Becker, 1994). Mikroalga memiliki keunggulan dibandingkan dengan makroalga dan tumbuhan tingkat tinggi. Keunggulannya antara lain hidupnya tidak

tergantungan musim, tidak memerlukan tempat yang luas, dan tidak memerlukan waktu yang lama untuk memanennya (Borowitzka, 1988).

Mikroalga menghasilkan beberapa vitamin penting, seperti vitamin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, E, nikotinamida, biotin, asam folat, dan asam pantotenat. Pigmen yang dihasilkan meliputi klorofil (0,5 sampai 1 %

dari berat kering), karotenoid (0,1 sampai 14 % dari berat kering), dan fikobiliprotein (Becker, 1994).

Salah satu jenis mikroalga dari golongan Chlorophyta adalah *Chlorella sp.* *Chlorella sp.* memiliki potensi sebagai pakan alami, pakan ternak, suplemen, penghasil komponen bioaktif bahan farmasi dan kedokteran. Dalam bidang pangan dapat dikembangkan untuk pangan sehat sebagai sumber protein, vitamin, dan mineral, dalam bidang kedokteran dapat bermanfaat untuk mencegah penyakit kanker, menurunkan tekanan darah tinggi, menurunkan kadar kolesterol darah dan sebagainya (Steenblock, 1996). Komposisi kimia *Chlorella sp.* terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia *Chlorella sp.*

Komposisi Kimia (%)	
<b>Karbohidrat</b>	20,6
<b>Protein</b>	30,9
<b>Lipid</b>	20,1
<b>Lain-lain</b>	28,4

Sumber : Ben-Amotz, *et al.* (1987).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa *Chlorella sp.* merupakan salah satu mikroalga yang mempunyai bioaktivitas sebagai antibakteri. Sriwardani (2000) melaporkan bahwa ekstrak kloroform mikroalga *Chlorella sp.* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* sebesar 46,2 %. Abedin dan Taha (2008) juga melaporkan bahwa ekstrak metanol *Chlorella pyrenoidosa* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 10 mm terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, sedangkan ekstrak etanol menghasilkan diameter zona hambat sebesar 25 mm terhadap bakteri *E. coli* dan tidak menghasilkan zona hambat terhadap *S. aureus*.

Yudha (2008) melaporkan bahwa ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat mikroalga *Dulaniella sp.* pada fase log terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Eschericia coli*, dan *Vibrio harveyi* menghasilkan diameter zona hambat berturut-turut sebesar 3, 4, 3, 5 mm,

serta 2, 2, 2, 3 mm, sedangkan ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat mikroalga *Dulaniella sp.* pada fase stasioner terhadap bakteri uji yang sama berturut-turut nilainya adalah 2, 2, 1, 4 mm, serta 2, 3, 2, 4 mm.

Komponen bioaktif dari mikroalga *Chlorella sp.* yang bisa menghasilkan efek farmakologis didapatkan dari biomassa *Chlorella sp.* Biomassa *Chlorella sp.* merupakan akumulasi dari sel *Chlorella sp.* hasil kultivasi dalam medium kultur. Untuk menghasilkan pertumbuhan mikroalga yang baik tentu diperlukan kondisi lingkungan dengan nutrisi yang sesuai. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultivasi *Chlorella sp.* adalah kualitas air yang meliputi suhu, salinitas, kekuatan cahaya, dan pH (Rostini, 2007).

Salah satu medium kultur yang bisa digunakan untuk medium kultivasi *Chlorella sp.* adalah Medium Ekstrak Tauge (MET). Medium Ekstrak Tauge (MET) merupakan medium kultur alami yang mengandung komponen-komponen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* seperti nitrogen dan fosfor. Penggunaan medium ekstrak tauge menghasilkan pertumbuhan mikroalga yang sangat pesat dibandingkan dengan medium lainnya yaitu Medium Air Laut (MAL) dan Medium Guillard (MG) (Wulandari, *et al.*, 2010). Medium Ekstrak Tauge 4 % merupakan medium yang cocok untuk kultivasi mikroalga (Prihantini, 2007).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* pada tiap fase pertumbuhan yang dikultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dan golongan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

## II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Bioteknologi Jurusan Kimia dan Laboratorium Ekologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Maret – Mei 2013.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah isolat *Chlorella sp.* dari Laboratorium Ekologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang (bagian yang digunakan adalah biomassa *Chlorella sp.*). Medium kultur menggunakan bahan taube kacang hijau. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol *p.a.*, media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), penisilin dan streptomisin, asam asetat anhidrat, kloroform, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, HCl 2 %, HCl pekat, reagen Dragendroff, reagen Mayer, reagen Wagner, larutan gelatin, FeCl<sub>3</sub> 1 %, metanol 50 %, logam Mg, dan akuades.

### Cara Kerja

#### Pembuatan Medium Ekstrak Taube (MET) 4 %

Pembuatan medium ekstrak taube diawali dengan pembuatan larutan stok MET yaitu 100 gram taube direbus dalam 500 mL akuades yang mendidih selama 1 jam. Medium ekstrak taube dibuat dengan cara melarutkan ekstrak taube ke dalam akuades dengan masing-masing konsentrasi 4 % (v/v) (Prihantini, *et al.*, 2005).

#### Kultivasi *Chlorella sp.* dalam Medium Ekstrak Taube (MET)

Sebanyak 10 ml isolat *Chlorella sp.* diinokulasikan ke dalam masing-masing 60 ml media ekstrak taube dalam erlenmeyer 1000 mL yang ditempatkan pada ruang dengan suhu 25 - 27 °C dan ditempatkan pada rak dengan pencahayaan menggunakan lampu TL 36 watt (intensitas cahaya 1000 - 4000 lux) dengan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap (Prihantini, *et al.*, 2005).

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan pada proses kultivasi selama 15 hari untuk menentukan tiap fase pertumbuhan dari *Chlorella sp.* Medium Ekstrak Taube (MET) yang mengandung *Chlorella sp.* diambil menggunakan pipet

teses dan diteteskan pada alat *Haemocytometer*. Jumlah sel *Chlorella sp.* yang ada dalam kotak hitung *Haemocytometer* dihitung secara berkala setiap 24 jam sekali mulai hari ke-0 hingga hari ke-15. Jumlah sel yang diperoleh selanjutnya dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut (Eaton, *et al.*, 2005 dalam Merizawati, 2008) :

$$N = n \times \frac{16}{\sum_{i=1}^{16} Kbi} \times \frac{1}{10^{-4}}$$

Keterangan :

N = Kelimpahan individu (sel/mL)

n = Jumlah sel

16 = Jumlah kotak kecil

$\sum_{i=1}^{16} Kbi$  = Jumlah kotak kecil yang diamati pada *Haemocytometer*

10<sup>-4</sup> = Volume air sampel yang menutupi 1 kotak besar pada *Haemocytometer*

Hasil perhitungan tersebut, dibuat grafik hubungan waktu kultivasi dengan jumlah sel *Chlorella sp.*

#### Pemanenan Biomassa *Chlorella sp.*

Pemanenan biomassa *Chlorella sp.* dilakukan pada fase ½ eksponensial, fase ¾ eksponensial, fase awal stasioner, fase stasioner dan fase akhir stasioner. Pemanenan dilakukan dengan cara media kultur *Chlorella sp.* disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Biomassa *Chlorella sp.* dipisahkan dari cairannya kemudian dilakukan penimbangan. Hasil penimbangan dicatat sebagai berat basah.

#### Preparasi Sampel Biomassa *Chlorella sp.*

Sampel biomassa *Chlorella sp.* dari tiap-tiap fase pertumbuhan yang masih basah diletakkan di wadah terbuka yang bentuknya agak datar kemudian dikering anginkan pada suhu ruang (25 - 30 °C) menggunakan kipas angin selama ±12 jam.

Selanjutnya biomassa yang sudah dikering anginkan tersebut ditimbang.

#### **Ekstraksi Maserasi Biomassa *Chlorella sp.***

Biomassa *Chlorella sp.* dari tiap-tiap fase pertumbuhan yang sudah kering dimaserasi menggunakan pelarut metanol selama 24 jam dengan perbandingan sampel terhadap pelarut 1 : 5 (w/v) dengan bantuan shaker  $\pm$  5 jam, kemudian disaring. Residu dimaserasi 2 kali lagi masing-masing selama 24 jam hingga filtrat yang diperoleh bening, kemudian di saring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dirotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat.

#### **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* terhadap *E. Coli* dan *S. aureus***

##### **a. Pembuatan Media Agar**

Sebanyak 2,3 gr *Nutrient Agar* (NA) dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam beaker glass dan dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditutup kapas. Media cair (*Nutrient Broth*) dibuat dengan cara sebanyak 0,9 gr *Nutrient Broth* (NB) dilarutkan dalam 100 mL akuades, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas. Suspensi media agar tersebut dipanaskan hingga mendidih lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 15 psi (*per square inchi*) (Volk dan Wheeler, 1993).

##### **b. Peremajaan Bakteri**

Biakan murni *S. aureus* dan *E. coli* digoreskan secara aseptis dengan jarum ose pada media padat agar miring dan tabung media ditutup dengan kapas. Media tersebut diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu 37 °C di dalam inkubator kemudian diletakkan dalam lemari pendingin.

##### **c. Pembuatan larutan Biakan Aktif**

Satu ose bakteri hasil peremajaan biakan murni *S. aureus* dan *E. coli*

dibiakkan dalam 10 mL media cair (NB) steril dan dihomogenkan.

##### **d. Uji Aktivitas Antibakteri**

Ditambahkan 0,1 mL larutan biakan aktif bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dalam cawan petri steril. Selanjutnya media agar padat 10 mL yang telah dipanaskan hingga mencair, didinginkan sampai suhu 40 oC, dan dituang ke dalam cawan petri dan dihomogenkan. Media dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram (diameter 5 mm) diresapkan dalam masing-masing ekstrak *Chlorella sp.* dan kontrol (kontrol positif: penisilin dan streptomisin), (kontrol negatif: pelarut dan MET). Kertas cakram tersebut diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Media bakteri yang sudah diberi bahan antibakteri diinkubasi pada suhu 37 oC selama 18-24 jam dalam inkubator. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan penggaris untuk menentukan aktivitas antibakteri.

#### **Uji Golongan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen**

Uji golongan senyawa aktif dilakukan dengan uji reagen pada golongan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid dan tanin.

### **III. HASIL DAN PEMBAHASAN**

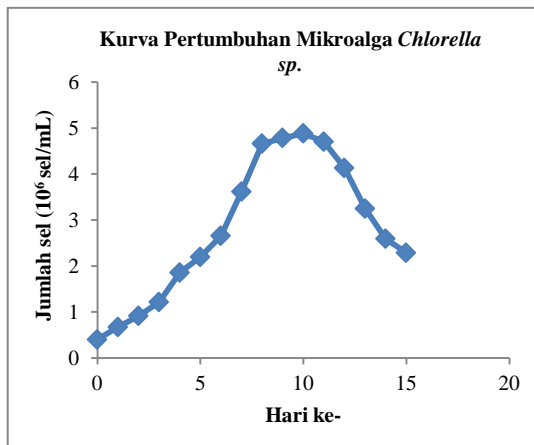
#### **Kultivasi *Chlorella sp.* dalam Medium Ekstrak Tauge (MET)**

Kurva pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* selama 15 hari ditunjukkan pada Gambar 1. Dari gambar tersebut terlihat bahwa fase eksponensial dimulai pada hari ke-0 sampai hari ke-8 yang ditandai dengan jumlah sel *Chlorella sp.* yang terus meningkat. Fase  $\frac{1}{2}$  eksponensial terjadi pada hari ke-4 dengan kelimpahan sel 1.856.000 sel/mL dan fase  $\frac{3}{4}$  eksponensial terjadi pada dan hari ke-6 dengan kelimpahan sel 2.656.000 sel/mL.

Fase stasioner terjadi pada hari ke-8 sampai hari ke-11 ditandai dengan laju pertumbuhan *Chlorella sp.* yang cenderung konstan. Hal ini menunjukkan bahwa pada



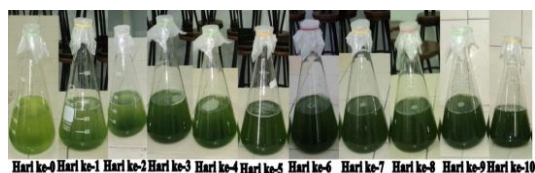
fase stasioner, sel *Chlorella sp.* sudah tidak mengalami pembelahan sel secara signifikan karena berkurangnya nutrisi yang tersedia.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Chlorella sp.* dalam MET

Kelimpahan sel pada hari ke-8 adalah 4.656.000 sel/mL sehingga pada hari ke-8 merupakan fase awal stasioner karena jumlah selnya tidak mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan hari ke-7. Kelimpahan sel pada hari ke-10 adalah 4.880.000 sel/mL sehingga hari ke-10 merupakan fase stasioner. Kurangnya ketersediaan nutrisi juga menyebabkan kelimpahan sel cenderung berkurang pada hari ke-11 yaitu 4.704.000 sel/mL, sehingga pada hari ke-11 sudah memasuki fase akhir stasioner.

Selama proses kultivasi, kultur *Chlorella sp.* juga mengalami perubahan warna. Hal ini menunjukkan bahwa kepadatan sel *Chlorella sp.* juga mengalami perubahan. Perubahan warna kultur *Chlorella sp.* selama kultivasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan warna kultur *Chlorella sp.*

### Pemanenan Biomassa *Chlorella sp.*

Pemanenan biomassa *Chlorella sp.* dilakukan pada tiap-tiap fase pertumbuhan

yaitu fase 1/2 eksponensial pada hari ke-4, fase 3/4 eksponensial pada hari ke-6, fase awal stasioner pada hari ke-8, fase stasioner pada hari ke-10, dan fase akhir stasioner pada hari ke-11.

### Preparasi Sampel Biomassa *Chlorella sp.*

Preparasi sampel biomassa mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan dengan cara pengeringan selama ±12 jam menggunakan kipas angin. Pengeringan tidak dilakukan dengan menggunakan oven karena dikhawatirkan pengovenan dengan suhu tinggi dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam biomassa *Chlorella sp.*

Tabel 2. Perubahan massa biomassa mikroalga *Chlorella sp.* setelah pengeringan

Biomassa mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	Massa (g)
Basah	400
Kering	55

Preparasi sampel dengan cara pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada sampel biomassa *Chlorella sp.* Hal ini dilakukan agar kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme dapat diminimalkan serta mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan tidak merusak komposisi kimia di dalamnya. Rendemen pengeringan biomassa basah *Chlorella sp.* adalah 14,096 % yaitu dari ±400 gram biomassa basah, setelah dikeringkan diperoleh ±55 gram biomassa kering yang telah berbentuk serbuk halus.

### Ekstraksi Maserasi Biomassa *Chlorella sp.*

Ekstraksi komponen aktif mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh berupa ekstrak kental berwarna hijau tua. Hasil rendemen ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rendemen ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.*

Mikroalga <i>Chlorella sp.</i>	Rendemen (%)
Fase ½ Ekspensial	10,273
Fase ¾ Ekspensial	11,525
Fase Awal Stasioner	12,182
Fase Stasioner	7,001
Fase Akhir Stasioner	6,890

Rendemen ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* pada fase ½ ekspensial hingga fase awal stasioner mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan oleh produksi senyawa hasil metabolisme pada *Chlorella sp.* juga meningkat. Pada fase stasioner hingga fase akhir stasioner metabolit yang dihasilkan oleh *Chlorella sp.* cenderung tidak bertambah dan telah banyak digunakan saat fase ekspensial, sehingga rendemen pada fase stasioner lebih kecil dibandingkan fase ekspensial.

**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* terhadap *E. Coli* dan *S. aureus***

Ekstrak metanol *Chlorella sp.* yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah ekstrak dari setiap fase pertumbuhan, yaitu fase ½ ekspensial, fase ¾ ekspensial, fase awal stasioner, fase stasioner, dan fase akhir stasioner. Pengujian ini dilakukan pada konsentrasi 15 % (b/v) (Agustini dan Kusmiati, 2002) dengan tujuan untuk menentukan ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Chlorella sp.*

Ekstrak Metanol <i>Chlorella sp.</i>	Zona Hambat (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Fase ½ Ekspensial	6,5	3,3
Fase ¾ Ekspensial	6,7	8,4
Fase Awal Stasioner	7,4	10,6
Fase Stasioner	<b>9,9</b>	<b>12,0</b>
Fase Akhir Stasioner	7,3	11,0

Kontrol Pelarut	-	-
Kontrol Media	-	-
Penisilin		26,0
Streptomisin	19,3	

Keterangan : Kontrol negatif : Metanol dan MET.  
Kontrol positif : Penisilin dan Streptomisin.

Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Chlorella sp.* dari fase stasioner memiliki aktivitas antibakteri yang tertinggi dibandingkan dengan fase lainnya. Ekstrak metanol *Chlorella sp.* dari fase stasioner mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dengan diameter zona hambat sebesar 9,9 mm, sedangkan pada bakteri *S. aureus* adalah 12 mm.

Daya hambat ekstrak metanol *Chlorella sp.* dari fase stasioner terhadap bakteri *E.coli* tergolong sedang (5-10 mm) dan bakteri *S. aureus* tergolong kuat (10-20 mm) (Davis dan Stout, 1971 dalam Yudha, 2008).

**Uji Golongan Senyawa Aktif**

Uji golongan senyawa aktif dengan menggunakan reagen menunjukkan hasil positif pada golongan senyawa steroid dan golongan senyawa tanin.

Tabel 5. Hasil pengamatan uji kandungan golongan senyawa aktif ekstrak biomassa *Chlorella sp.*

Golongan Senyawa	Hasil Uji pada Ekstrak Metanol
Alkaloid	-
Flavonoid	-
Tanin	+
Steroid	+
Triterpenoid	-

Keterangan: tanda +: terkandung senyawa  
tanda - : tidak terkandung senyawa

**Steroid**

Pengujian golongan senyawa steroid dilakukan dengan penambahan kloroform, asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat ke dalam larutan ekstrak. Penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dilakukan terakhir kali dan dialirkan melalui dinding tabung sedikit demi sedikit. Ekstrak metanol *Chlorella sp.* mengandung golongan senyawa steroid karena

menunjukkan adanya perubahan warna dari hijau kekuningan menjadi hijau kebiruan setelah penambahan reagen tersebut.

Jika dalam larutan uji terdapat molekul air, maka asam asetat anhidrat akan berubah menjadi asam asetat sebelum reaksi berjalan dan turunan asetil tidak akan terbentuk. Triterpenoid memberikan reaksi terbentuknya cincin kecoklatan ketika senyawa ini ditetesi asam sulfat pekat melalui dindingnya, sedangkan steroid akan menghasilkan warna hijau kebiruan (Robinson, 1995).

Steroid cenderung bersifat non polar. Golongan senyawa ini terdapat pada ekstrak metanol (sifat polar) dimungkinkan karena terikat dalam bentuk glikosidanya dimana unit steroid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida.

#### Tanin

Pengujian tanin pada ekstrak metanol biomassa *Chlorella sp.* pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 2 reagen, yaitu FeCl<sub>3</sub> dan larutan gelatin. Hasil uji tanin menggunakan FeCl<sub>3</sub> adalah negatif karena tidak menunjukkan adanya warna hijau kehitaman atau biru tua. Sedangkan hasil uji tanin menggunakan larutan gelatin adalah positif karena terbentuk endapan putih di dasar tabung pada ekstrak metanol biomassa *Chlorella sp.* Endapan putih terbentuk karena adanya ikatan hidrogen antara senyawaan tanin dengan gelatin.

Gelatin mengandung protein sehingga terbentuk senyawa kompleks tanin-protein, dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara tanin dan protein pada gelatin sehingga dapat terbentuk endapan putih. Ikatan hidrogen ini terbentuk dari atom H yang berikatan dengan 2 atom yang memiliki keelektronegatifan yang tinggi seperti atom N, O dan F. Ikatan hidrogen yang terbentuk disebabkan oleh atom H yang terikat dengan 2 atom O ataupun yang terikat dengan atom O dan N dari struktur tanin dan gelatin.

#### IV KESIMPULAN

1. Ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* dari tiap-tiap fase mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Zona hambat yang dihasilkan ekstrak metanol *Chlorella sp.* pada fase  $\frac{1}{2}$  eksponensial, fase  $\frac{3}{4}$  eksponensial, fase awal stasioner, fase stasioner, dan fase akhir stasioner berturut-turut adalah 6,5 mm, 6,7 mm, 7,4 mm, 9,9 mm, dan 7,3 mm terhadap bakteri *E. coli* dan 3,3 mm, 8,4 mm, 10,6 mm, 12,0 mm, dan 11,0 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Aktivitas bakteri tertinggi ekstrak metanol *Chlorella sp.* adalah pada fase stasioner.
2. Golongan senyawa ekstrak metanol biomassa *Chlorella sp.* adalah steroid dan tanin.

#### V. DAFTAR PUSTAKA

- Abedin, R. M. A. dan Taha, H. M. 2008. Antibacterial and Antifungal Activity of Cyanobacteria and Green Microalgae, Evaluation of Medium Components by Plackett-Burman Design for Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*. Volume 3(1): 22-31.
- Agustini, N. W. S. dan Kusmiati. 2002. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Secara Maserasi dan Digesti dalam Berbagai Pelarut dari Mikroalga *Dulaniella salina*. Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS: 544-551.
- Becker. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. London: Cambridge University Press.
- Ben-Amotz; Fishler dan Schneller. 1987. Chemical Composition of Dietary Species of Marine Unicellular Algae and Rotifers with Emphasis on Fatty Acid. *Marine Biology*. Volume 95: 31-36.

- Borowitzka, M. A. dan Lesley, J. B. 1988. *Microalgae Biotechnology*. London: Cambridge University Press.
- Davis, W. W. dan Stout, T. R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Journal of Microbiology*. 22(4): 659-665.
- Eaton, A. D. et al. 1995. *Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater*. Washington DC: American Public Health Association.
- Merizawati. 2008. Analisis Sinar Merah, Hijau dan Biru (RGB) untuk Mengukur Kelimpahan Fitoplankton (*Chlorella* sp.) Skripsi Diterbitkan. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.
- Prihantini, N. B., Putri, B. dan Yuniati, R. 2005. Pertumbuhan *Chlorella* sp. Dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) Dengan Variasi pH Awal. *Makara, Sains*, Vol. 9(1) : 1 - 6.
- Prihantini, N. B., Damayanti, D. dan Yuniati, R. 2007. Pengaruh Konsentrasi Medium Ekstrak Tauge (MET) terhadap Pertumbuhan *Scenedesmus* Isolat Subang. *Makara, Sains*, Vol. (11): 1 - 9.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rostini, I. 2007. *Kultur Fitoplankton (*Chlorella* sp. dan *Tetraselmis chuii*) pada Skala Laboratorium*. Skripsi Diterbitkan. Jatinangor: Universitas Padjajaran.
- Sriwardani, T. 2000. *Pemisahan Ekstrak Intraseluler dari Mikroalga *Chlorella* sp. dan Penentuan Konsentrasi Hambatan Minimum Terhadap Bakteri dan Kapang Patogen*. Skripsi Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Steenblock. 1996. *Chlorella Makanan Sehat Alami*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar, Alih Bahasa : Markham*. Jakarta: PT. Glora Aksara Pratama.
- Wulandari, A. P.; Naderia, F.; Pattalia, A. E. dan Permata, D. R. 2010. Identifikasi Mikroalga di Sekitar Pantai Pangandaran dan Potensi Pertumbuhannya pada Formulasi Medium Ekstrak Tauge (MET). *Prosiding Seminar Nasional Limnologi V Tahun 2010*. Jatinangor: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran. 535-542.
- Yudha, A. P. 2008. *Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Dunaliella* sp. pada Umur Panen yang Berbeda*. Skripsi Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.