

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF MARINE MICROALGAE
Nannochloropsis sp. AGAINST *Escherichia coli* BACTERIA BY IN VITRO
TECHNIQUE**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL MIKROALGA LAUT
Nannochloropsis sp. TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* SECARA IN-VITRO**

Endah Ratnasari Mulatasih¹
E-mail: endahratnasari@poltekkes-tjk.ac.id

ABSTRACT

Marine microalgae has various advantages such as rapid growth and requires simple nutrients to grow and is able to withstand on various enviromental conditions. Some types of microalgae are having ability as antibacterial. This research aims to study the antibacterial activity of marine microalgae Nannochloropsis sp. against the Escherichia coli bacteria with the Kirby-Bauer diffusion Disk method. Nannochloropsis sp. grown for several days in Walne medium. The biomass of microalgae is dried and mashed into simplicia. Then, simplicia of Nannochloropsis sp. was macerated with 96% ethanol and concentrated by rotary evaporator. The results showed ethanol extract of marine microalgae Nannochloropsis sp. has inhibitory power against Escherichia coli bacteria. The average inhibition zone formed in the volume of extracts of 20, 30, 40, 60, 80 and 100 µL are 9.43; 15,13; 16.40; 17,82; 20.09; and 22.53 mm.

Keywords: Nannochloropsis sp., Antibacteria, Escherichia coli

ABSTRAK

Mikroalga laut memiliki berbagai kelebihan antara lain pertumbuhannya yang cepat dan membutuhkan nutrisi sederhana untuk tumbuhnya serta mampu bertahan pada berbagai kondisi lingkungan. Beberapa jenis mikroalga diketahui memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan metode *Disk diffusion Kirby-Bauer*. *Nannochloropsis* sp. ditumbuhkan selama beberapa hari dalam medium Walne. Biomassa mikroalga yang diperoleh dikeringkan dan dihaluskan sehingga diperoleh simplisia *Nannochloropsis* sp. Simplisia tersebut kemudian di maserasi dengan etanol 96% dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Zona hambat rata-rata yang terbentuk yaitu volume ekstrak 20, 30, 40, 60, 80 dan 100 µL berturut-turut 9,43; 15,13; 16,40; 17,82; 20,09; dan 22,53 mm.

Kata kunci: *Nannochloropsis* sp., Antibakteri, *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara tropis dengan kelembapan yang tinggi sehingga penyakit infeksi banyak terjadi di Indonesia. Infeksi merupakan keadaan masuknya mikroorganisme, yang berupa virus, jamur atau bakteri, ke dalam tubuh kemudian berkembang biak dan menimbulkan berbagai penyakit. Penyakit infeksi yang berasal dari bakteri dapat menyebabkan infeksi

lokal maupun sistemik [5]. Terdapat berbagai macam bakteri penyebab penyakit antara lain *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* [3].

Escherichia coli dapat menyebabkan infeksi traktus urinarius, meningitis, dan septisemia [15]. Dalam kondisi sehat, bakteri ini merupakan flora normal pada manusia yang terdapat dalam gastrointestinal.

Namun bila jumlah bakteri ini melebihi ambang batas normal maka dapat mengakibatkan infeksi yang menyebabkan penyakit diare baik diare akut maupun kronis [7].

Pengobatan diare akut yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli* salah satunya dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Penelitian menyatakan bahwa sebanyak 21,5% bakteri *Escherichia coli* sudah resisten terhadap antibiotic [12]. Penelitian lain menyatakan, *Escherichia coli* sudah resisten terhadap antibiotik beta laktam [9]. Alternatif yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan karena resistensi yaitu dengan memanfaatkan sumber lain yang berasal dari alam seperti mikroalga.

Mikroalga laut dipilih karena Indonesia adalah negara maritim dengan sebagian besar wilayahnya adalah lautan Hal ini menyebabkan mikroalga merupakan sumber potensial yang dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan manusia. Mikroalga merupakan sumber penting dari berbagai produk kimia yang digunakan dalam industri makanan dan farmasi [1]. Berbagai macam zat organik seperti protein, asam amino, vitamin, polisakarida dan karbohidrat yang diekstrak dari mikroalga telah digunakan sebagai suplemen makanan [8]. Selain komponen tersebut, mikroalga juga menghasilkan bahan aktif yang berupa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas tertentu [6]. Aktivitas antibakteri mikroalga diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri antara lain *Escherichia coli*, *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp., *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp., *Klebsia* sp., dan *Enterococcus* sp. [11].

Ada berbagai jenis mikrolaga laut salah satunya adalah *Nannochloropsis* sp. Mikroalga ini merupakan mikroalga hijau yang tumbuh di laut. Bentuknya adalah bulat dengan diameter 4–6 μm . Mikroalga ini tidak memiliki flagela dan bersifat tidak bergerak [8].

Mikroalga laut *Nannochloropsis oculata*, mengandung fatty acid methyl esters (FAME) yang diekstrak dengan

pelarut kloroform: metanol (1:2), memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada variasi ekstrak 10, 20, dan 30 $\mu\text{L}/\text{disk}$ [14].

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri yang berasal dari mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Nannochloropsis* sp. yang digunakan pada penelitian ini berasal dari perairan Lampung. Mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. dikultivasi pada air laut yang diperkaya dengan medium Walne. sehingga dapat diperoleh biomassa dalam jumlah banyak. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang terbentuk di uji aktivitasnya pada berbagai volume ekstrak yaitu 20, 30, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{L}/\text{disk}$. Berangkat dari deskripsi diatas, maka dilakukan penelitian yang berjudul Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Nannochloropsis* sp. terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara *In-Vitro*.

METODOLOGI PENELITIAN

Rancangan penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu ekstrak etanol mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. dengan perbandingan volume ekstrak sebesar 20, 30, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{L}/\text{disk}$. Sebagai kontrol negatif adalah aqua destilasi.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat gelas laboratorium, lampu neon, botol kaca berkapasitas 1 L, sumbat karet, pipa kaca berbentuk L, cabang T plastik, pompa air, aerator, selang plastik, *luxmeter*, botol semprot, otoklaf, inkubator, desikator, neraca analitik, pipet mikro beserta tip nya, mikroskop cahaya, refraktometer, *Improved Neubanner Haemocytometer*, *Rotary*

Evaporator jangka sorong, hot plate, pinset, lampu spiritus, dan jarum ose.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain bibit *Nannochloropsis* sp., *Escherichia coli*, air laut, aqua destilasi, alkohol, kapas lemak, kasa, kertas saring, etanol, medium NB (*Nutrien Broth*), medium MHA (*Mueller Hinton Agar*), NaCl, disk kloramfenikol, aluminium foil, NaNO₃, Na₂EDTA, NaH₂PO₄.2H₂O, FeCl₃.6H₂O, MnCl₂.4H₂O, ZnCl₂, CoCl₂.6H₂O, (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O, CuSO₄.5H₂O, vitamin B1 dan vitamin B12.

Prosedur Penelitian

Kultivasi *Nannochloropsis* sp.

Mikroalga *Nannochloropsis* sp. dikultivasi dalam medium pertumbuhan yang mengandung air laut dan diperkaya dengan medium Walne. Mikroalga ditumbuhkan selama 10 hari dengan kepadatan awal 10⁶ sel/mL, salinitas 25 ppt, suhu ruang sekira 27±1°C dan pencahayaan sebesar 1500 lux.

Ekstraksi

Biomassa *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh dikeringkan dan dihaluskan untuk selanjutnya dimaserasi dalam etanol 96% selama 24 jam. Residu kemudian dimaserasi kembali sebanyak 2 kali dimana masing-masing dilakukan selama 24 jam hingga filtrat yang diperoleh menjadi bening. Maserat yang diperoleh kemudian disaring dan

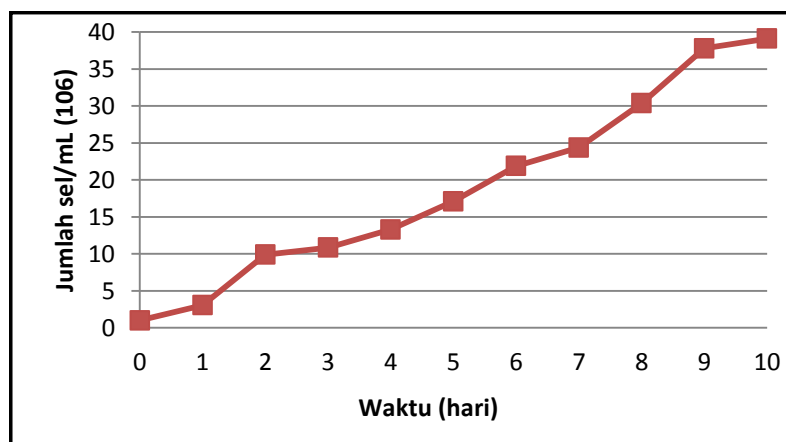
diapakan menggunakan rotary evaporator sehingga dihasilkan ekstrak kental.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Disk diffusion Kirby-Bauer* [2]. Medium yang digunakan adalah MHA. Medium MHA diinokulasi suspensi bakteri *Escherichia coli* yang sdh distandarisasi dengan Mac Farland. Selanjutnya, ekstrak etanol *Nannochloropsis* sp. ditambahkan pada disk dengan variasi volume 20, 30, 40, 60, 80, 100 µL/ disk. Medium MHA kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Kontrol negatif yang digunakan adalah aquades. Zona bening yang merupakan zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* akan terbentuk di sekitar cakram.

HASIL PENELITIAN

Mikroalga laut *Nannochloropsis* sp.. dikultivasi dalam medium Walne selama beberapa hari dengan kepadatan sel awal sebesar 10⁶ sel/mL. Saat kultivasi, kultur mikroalga mengalami perubahan warna sehingga medium kultur menjadi semakin hijau. Selama kultivasi, kepadatan sel mikroalga terus dipantau setiap harinya sehingga diketahui pertumbuhan mikroalga. Hasil kultivasi menunjukkan kepadatan sel yang terus meningkat hingga hari ke-10. kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1.
Kurva Pertumbuhan Mikroalga Laut *Nannochloropsis* sp.

Hasil pemanenan kultur mikroalga diperoleh biomassa basah mikroalga berupa pasta *Nannochloropsis* sp. dengan kondisi pasta sebagai berikut. Pasta berwarna hijau, tidak berbau dan berbentuk padat.

Pasta mikroalga kemudian dikeringkan dan dihaluskan sehingga diperoleh simplisia *Nannochloropsis* sp. Selanjutnya, simplisia dimaserasi hingga diperoleh ekstrak etanol mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. (Gambar 2). Ekstrak yang terbentuk berwarna hijau lumut tua, tidak berbau, berbentuk cairan kental dan bersifat larut dalam air.

Ekstrak etanol mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh kemudian diuji aktivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli*. Media yang digunakan adalah MHA (*Miller Huillinton Agar*) sehingga diperoleh hasil yang dapat dilihat pada Tabel 1. Ekstrak etanol mikroalga *Nannochloropsis* sp.

menunjukkan memiliki aktifitas terhadap *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar *disk*. Zona hambat yang terbentuk pada medium MHA dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Nannochloropsis* sp.

Kelompok	Rerata Zona Hambat (mm)
Kontrol negatif	0,00±0,00
Ekstrak Etanol <i>Nannochloropsis</i> sp. 20 µL	9,43±0,79
Ekstrak Etanol <i>Nannochloropsis</i> sp. 30 µL	15,13±0,44
Ekstrak Etanol <i>Nannochloropsis</i> sp. 40 µL	16,40±0,68
Ekstrak Etanol <i>Nannochloropsis</i> sp. 60 µL	17,82±0,76
Ekstrak Etanol <i>Nannochloropsis</i> sp. 80 µL	20,09±0,66
Ekstrak Etanol <i>Nannochloropsis</i> sp. 100 µL	22,53±0,04



Gambar 3. Zona hambat ekstrak etanol mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. terhadap *Escherichia coli*

Data yang diperoleh kemudian dilakukan analisa menggunakan SPSS. Uji normalitas Shapiro wilk dengan sampel kurang dari 50 menunjukkan

nilai signifikansi yang lebih besar dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya, Uji homogenitas varians menunjukkan nilai

signifikansi sebesar 0,151. Nilai ini lebih besar dari 0,05 maka dapat dikatakan tidak terdapat perbedaan varians antara kelompok data yang dibandingkan sehingga varians data adalah sama. Hal ini menunjukkan hasil uji Anova adalah valid. Uji Anova menunjukkan nilai signifikansi 0,00. Nilai ini lebih kecil dari 0,05 sehingga H_0 ditolak atau dengan kata lain terdapat perbedaan signifikan pada zona hambat karena adanya perbedaan volume ekstrak.

PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan diperoleh kurva pertumbuhan mikroalga. Mikroalga ditumbuhkan dalam medium Walne yang memiliki nutrisi yang baik untuk pertumbuhan mikroalga. Medium Walne merupakan medium diperkaya sehingga menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroalga seperti makro nutrisi, mikro nutrisi dan vitamin. Pada prosesnya, terjadi pertumbuhan mikroalga yang ditunjukkan pada perubahan warna medium kultur yang menjadi semakin hijau hingga hari ke-10. Hal ini menunjukkan terjadi peningkatan jumlah sel mikroalga. Pada awalnya, sel mikroalga yang digunakan adalah 10^6 sel/mL dan meningkat menjadi $39,13 \times 10^6$ sel/mL pada hari ke-10.

Simplisia *Nannochloropsis* sp. yang diperoleh pada kultivasi diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pelarut etanol diketahui mampu menarik senyawa fitokimia yang terkandung di dalam mikroalga. Flavonoid adalah senyawa dominan yang diperoleh dengan ekstraksi menggunakan pelarut aseton dan etanol [11]. Flavonoid merupakan molekul yang berfungsi untuk melindungi sel dari kerusakan oksidatif [10]. *Screening* fitokimia menunjukkan adanya tannin, flavonoid, steroid, glikosida dan alkaloid pada ekstrak etanol *Nannochloropsis* sp. [4]. Saponin dan triterpenoid merupakan senyawa fitokimia yang tidak terdapat pada *Nannochloropsis* sp. [4].

Uji antibakteri menunjukkan adanya peningkatan daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*

dengan peningkatan volume ekstrak mikroalga laut *Nannochloropsis* sp. Daya antibakteri diketahui dari zona bening di sekitar disk yang sudah di mengandung ekstrak. Zona hambat rata-rata ekstrak etanol *Nannochloropsis* sp. terhadap *Escherichia coli* dengan volume ekstrak 20, 30, 40, 60, 80 dan 100 μ L berturut-turut adalah 9,43; 15,13; 16,40; 17,82; 20,09; dan 22,53 mm. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Surendhiran, 2014 yang menyebutkan bahwa ekstraksi FAME berpelarut kloroform:metanol (1:2) dari mikroalga *Nannochloropsis oculata* memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Hal ini menunjukkan bahwa mikroalga *Nannochloropsis* sp. memiliki potensi sebagai antibakteri dan potensial di dalam bidang farmasi.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh pada penelitian ini adalah:

1. Mikroalga *Nannochloropsis* sp. tumbuh baik dalam medium Walne.
2. Zona hambat rata-rata ekstrak etanol *Nannochloropsis* sp. terhadap *Escherichia coli* dengan volume ekstrak 20, 30, 40, 60, 80 dan 100 μ L berturut-turut adalah 9,43; 15,13; 16,40; 17,82; 20,09; dan 22,53 mm.
3. Terdapat perbedaan signifikan pada zona hambat karena adanya perbedaan volume ekstrak.

SARAN

Saran yang dapat diberikan pada penelitian berikutnya:

1. Sebaiknya Perlu dilakukan optimasi pertumbuhan mikroalga untuk mendapatkan biomassa lebih banyak.
2. Perlu dilakukan uji dengan variasi konsentrasi ekstrak
3. Perlu dilakukan uji lebih lanjut sehingga diperoleh potensi lainnya yang berasal dari *Nannochloropsis* sp.

DAFTAR PUSTAKA

1. Borowitzka MA. (1995). Microalgae as Sources of Pharmaceuticals and the Biologically Active Compounds. *J Appl Phycol.* **7**:3-15.

2. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45**:493-496.
3. Djide N., Sartini. (2006). *Dasardasar Mikrobiologi*. Universitas Hasanuddin. Makasar.
4. Fithriani D., Sri A., Susiana M., Rini S. (2015). Uji Fitokimia, kandungan total fenol, dan aktivitas antioksidan mikroalga *Spirullina* sp., *Chlorella* sp. dan *Nannochloropsis* sp. *JPB Kelautan dan Perikanan* **10**(2):101-109.
5. Ganiswarna S. (1995). *Farmakologi dan Terapi*. edisi IV. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
6. Iwamoto C, Yamada T, Ito Y, Minoura K, Numata A. (2001). Cytotoxic cytochalasans from a penicillium species separated from a marine alga. *Tetrahedron*. **57**:2904-2997.
7. Jawetz, Melnick, Adelbeg. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta.
8. Kawaroe M., Prartono, T., Sunuddin A., Sari D.W., Augustine D. (2010). *Mikroalga: Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. IPB Press. Bogor.
9. Mardiasuti, Karuniawati A., Kiranasari A., Ikaningsih, Kadarsih, R. (2007). Emerging Resistance Pathogen: Situasi Terkini di Asia, Eropa, Amerika Serikat, Timur Tengah dan Indonesia. *Majalah Kedokteran Indonesia*. **57**(3):75-79.
10. Procházková D., Boušová I., Wilhelmová N. (2011). Antioxidant and Prooxidant Properties of Flavonoids. *Fitoterapia*, **82**(4):513-523.
11. Rajendran N., Karpanai, S.B., Sobana, P.P.V., Logeswari, Kathiresan, E., Tamilselvi, A., John, V.S. (2014). Phytochemicals, Antimicrobial and Antioxidant Screening from Five Marine Microalgae. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. **2**:78-85.
12. Refdanita, Maksum R., Nurgani A., Endang P.. (2004). Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Utara Tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*. **8**(2):41-48.
13. Smit A.J. (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products. *J. Appl. Phycol.* **16**:245-262.
14. Surendhiran D., Mani V., Abdul RS., Thiruvengadam S., Amavasai SS., Kuppusamy T. (2014). A Green Synthesis of Antimicrobial Compounds from Marine Microalgae *Nannochloropsis oculata*. *Journal of Coastal Life Medicine*. **2**(11):859-863.
15. Yenny. (2007). Resistensi dari bakteri enterik: aspek global terhadap antimikroba. *Universa Medicina*. **26** (1):53-54.