

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT,  
KLOROFORM, PETROLEUM ETER, DAN N-HEKSANA HASIL  
HIDROLISIS EKSTRAK METANOL MIKROALGA *Chlorella sp.***

**SKRIPSI**

Oleh:

**KISWANTI SURYA UTAMI  
NIM. 10630075**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2014**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT,  
KLOROFORM, PETROLEUM ETER, DAN N-HEKSANA HASIL  
HIDROLISIS EKSTRAK METANOL MIKROALGA *Chlorella sp.***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri  
Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:  
KISWANTI SURYA UTAMI  
NIM. 10630075**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2014**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT,  
KLOROFORM, PETROLEUM ETER, DAN N-HEKSANA HASIL  
HIDROLISIS EKSTRAK METANOL MIKROALGA *Chlorella sp.***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**KISWANTI SURYA UTAMI**  
**NIM. 10630075**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 10 Juli 2014

Pembimbing I

Pembimbing II

A. Ghanaim Fasya, M.Si  
NIP. 19820616 200604 1 002

Tri Kustono Adi, M.Sc  
NIP. 19710311 200312 1 002

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT,  
KLOOROFORM, PETROLEUM ETER, DAN N-HEKSANA HASIL  
HIDROLISIS EKSTRAK METANOL MIKROALGA *Chlorella sp.***

**SKRIPSI**

**Oleh:  
KISWANTI SURYA UTAMI  
NIM. 10630075**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Tugas Akhir dan  
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah satu Persyaratan untuk  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Malang, 10 Juli 2014

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(	)
Ketua Penguji	: Nur Aini, M.Si NIPT. 20130910 2 316	(	)
Sekretaris Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(	)
Anggota Penguji	: Tri Kustono Adi, M.Sc NIP. 19710311 200312 1 002	(	)

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002

## MOTTO

Never Give Up

I Know, I Want, And I Can Do It

Hidup Itu Pilihan

Don't Think To Be The Best, But  
Think To Do The Best

Man Jaddah Wajaddah

Segala Sesuatu Itu Butuh  
Pengorbanan

By:One\_ty ^\_^

## Lembar Persembahan

Ku persembahkan karyaku ini kepada:

kepada kedua orang tua ku yang selalu menyayangi,  
menyemangati,  
dan memberikan aku motivasi.....

Adik ku Ilul dan Faldi, kalian luar biasa....

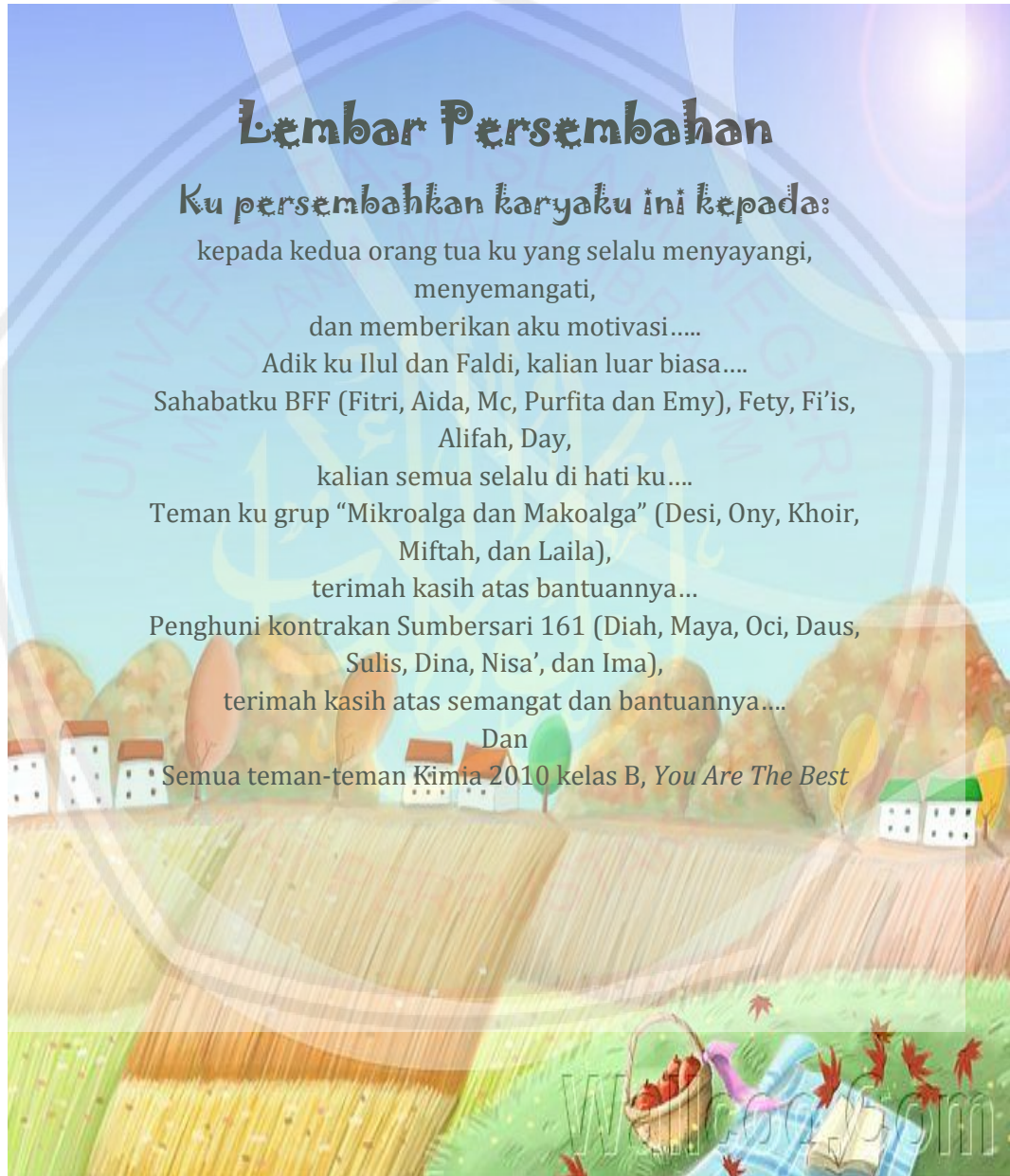
Sahabatku BFF (Fitri, Aida, Mc, Purfita dan Emy), Fety, Fi'is,  
Alifah, Day,  
kalian semua selalu di hati ku....

Teman ku grup "Mikroalga dan Makoalga" (Desi, Ony, Khoir,  
Miftah, dan Laila),  
terimah kasih atas bantuannya...

Penghuni kontrakan Summersari 161 (Diah, Maya, Oci, Daus,  
Sulis, Dina, Nisa', dan Ima),  
terimah kasih atas semangat dan bantuannya....

Dan

Semua teman-teman Kimia 2010 kelas B, *You Are The Best*



**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kiswanti Surya Utami

NIM : 10630075

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 10 Juli 2014

Yang Membuat Pernyataan,

Kiswanti Surya Utami  
NIM. 10630075

## KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya atas terselesaikan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, Dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.*”** ini tepat pada waktunya. Shalawat serta salam senantiasa turunkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhoi oleh Allah SWT. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Seiring dengan terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh rasa hormat, kesungguhan, dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Semua keluargaku Ibu, Bapak, Adik Ilul, Adik Faldi yang selalu ada untuk saya, selalu menyemangati dan mendoakan saya.
2. A. Ghanaim Fasya, M.Si, selaku Pembimbing Utama yang selalu memberikan bimbingan dan banyak pengetahuan bagi saya mengenai ilmu kimia terutama setiap konsultasi skripsi dan setiap konsultasi mata kuliah.
3. Tri Kustono Adi, M.Sc, selaku Pembimbing Agama.
4. Anik Maunatin, M.P, selaku Konsultan.
5. Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku Penguji Utama.
6. Nur Aini, M.Si, selaku Ketua Penguji.

Yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, motivasi, nasihat, doa, dukungan dan bantuan materiil kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung memperoleh bantuan dari beberapa pihak. Oleh karena itu, Penulis mengucapkan terima kasih sedalam-dalamnya kepada semua pihak, khususnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.



2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Seluruh Dosen pengajar khususnya di Jurusan Kimia yang telah memberikan ilmunya kepada penulis selama kuliah di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Seluruh staf Laboratorium (Mas Abi, Mas Taufik, Mbak Rika, Mbak Susi, dan Mbak Mei) dan staf administrasi (Mbak Ana) Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Terimakasih atas bantuannya.
6. Kedua temanku dari “Grup Mikroalga dan Makroalga” Desi, Ony, Khoir, Miftah, dan Laila yang selalu membantu, menyemangati, member motivasi dan bersama-sama dalam suka duka menyelesaikan penelitian ini. *You Are The Best*
7. Teman-teman kontrakan sumbersari dan Keluarga Besar Pak Joko yang selalu memberi semangat serta mendukungku.
8. Teman-teman kimia 2010 terutama kelas B, terima kasih atas canda tawa, dukungan, motivasi, kebersamaan, dan kekompakannya selama empat tahun.
9. Semua pihak yang tidak tertulis, terima kasih atas bantuan dan dukungannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan karena keberadaannya masih sangat terbatas dalam segala hal. Oleh karena itu, saya mengharapkan saran dan kritik yang bersifat konstruktif kedepannya. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat diterima dan hasilnya dapat bermanfaat bagi semua orang.

Malang, 10 Juli 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN .....	v
SURAT PERNYATAAN ORSINALITAS PENELITIAN.....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
ABSTRAK .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	7
1.3. Tujuan Penelitian .....	8
1.4. Batasan Masalah .....	8
1.5. Manfaat Penelitian .....	9
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Mikroalga .....	10
2.2. Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	13
2.2.1. Faktor-faktor Pertumbuhan <i>Chlorella sp.</i> .....	15
2.2.2. Fase-fase Pertumbuhan <i>Chlorella sp.</i> .....	16
2.2.3. Medium Ekstrak Tauge (MET) .....	18
2.2.4. Manfaat <i>Chlorella sp.</i> sebagai Antibakteri .....	20
2.3. Ekstraksi Komponen Aktif <i>Chlorella sp.</i> .....	21
2.4. Aktivitas Antibakteri .....	24
2.4.1. Bakteri .....	24
2.4.1.1. Gram Positif .....	27
2.4.1.2. Gram Negatif .....	28
2.4.2. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri .....	30
2.4.3. Penentuan Jumlah Bakteri .....	31
2.4.4. Antibakteri .....	33
2.4.5. Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri .....	34
2.4.6. Uji Aktivitas Antibakteri .....	37
2.5. Kandungan Senyawa Aktif <i>Chlorella sp</i> .....	38
2.6. Identifikasi Senyawa Aktif Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> dengan Uji Fitokimia .....	39
2.6.1. Flavonoid .....	39

2.6.2. Alkaloid .....	39
2.6.3. Steroid .....	40
2.6.4. Triterpenoid .....	41
2.6.5. Tanin .....	41

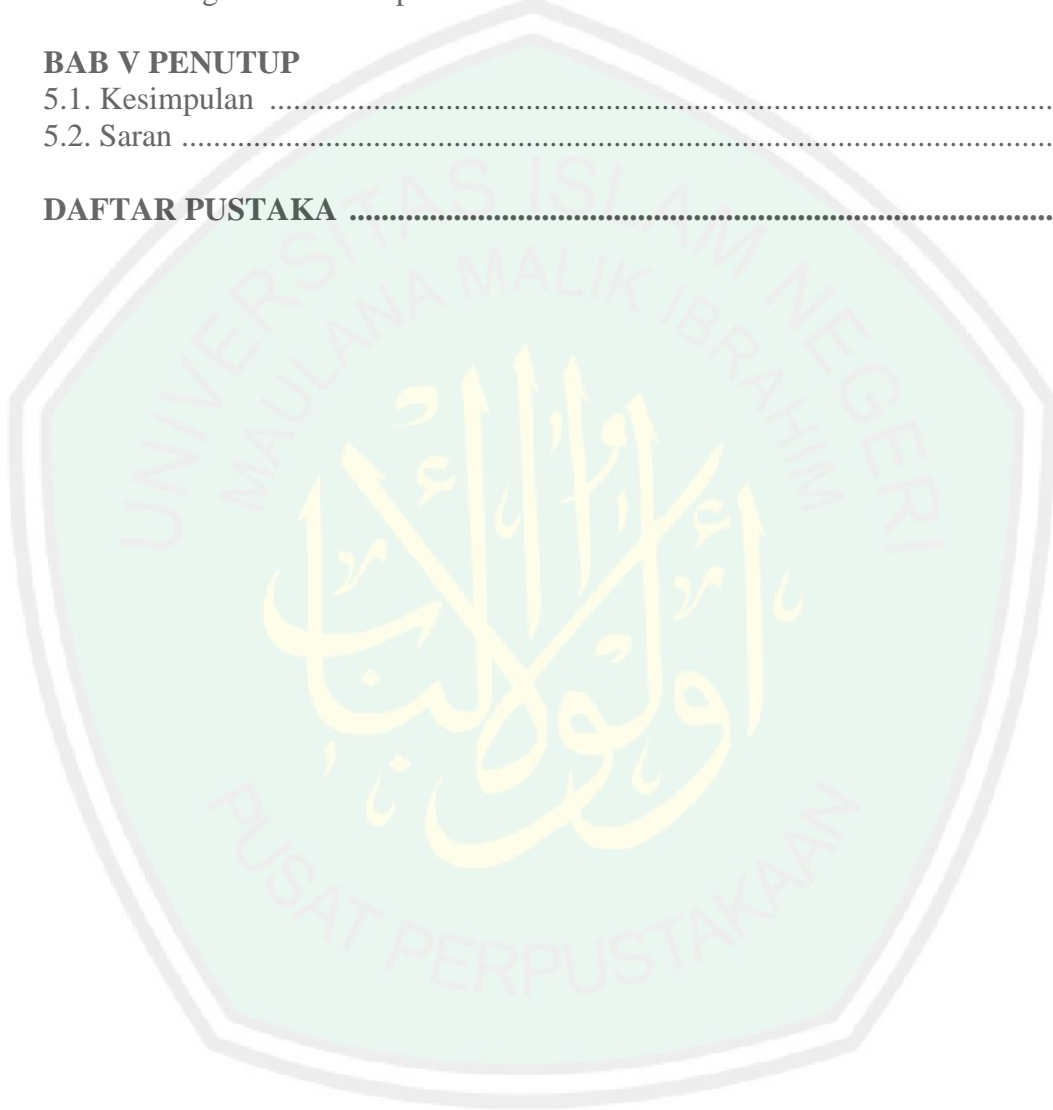
### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	43
3.2. Alat dan Bahan .....	43
3.2.1. Alat .....	43
3.2.2. Bahan .....	43
3.3. Rancangan Penelitian .....	44
3.4. Tahapan Penelitian .....	47
3.5. Cara Kerja .....	48
3.5.1. Kultivasi Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	48
3.5.1.1. Sterilisasi Alat .....	48
3.5.1.2. Pembuatan Medium Ekstrak Tauge .....	48
3.5.1.3. Kultivasi <i>Chlorella sp.</i> dalam Medium Ekstrak Tauge .....	48
3.5.1.4. Pemanenan Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	49
3.5.2. Preparasi Sampel .....	49
3.5.3. Analisis Kadar Air Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	49
3.5.4. Ekstraksi Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> dengan Maserasi .....	50
3.5.5. Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Metanol .....	51
3.5.6. Uji Aktivitas Antibakteri .....	51
3.5.6.1. Sterilisasi Alat .....	51
3.5.6.2. Pembuatan Media .....	52
3.5.6.3. Peremajaan Biakan Murni Bakteri .....	52
3.5.6.4. Pembuatan Suspensi Bakteri .....	53
3.5.6.5. Uji Aktivitas Antibakteri .....	53
3.5.7. Identifikasi Senyawa Aktif dalam Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	54
3.5.6.1. Uji Triterpenoid .....	54
3.5.6.2. Uji Alkaloid .....	54
3.5.6.3. Uji Flavonoid .....	55
3.5.6.4. Uji Steroid .....	55
3.5.6.5. Uji Tanin .....	55
3.5.6.5.1. Uji dengan FeCl <sub>3</sub> .....	55
3.5.6.5.2. Uji dengan Larutan Gelatin .....	56
3.6. Analisis Data .....	56

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1. Uji Taksonomi Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	57
4.2. Kultivasi Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	58
2.2.1. Pembuatan Medium Ekstrak Tauge (MET) .....	58
4.2.2. Kultivasi dan pemanenan Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	59
4.3. Analisis Kadar Air Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	61
4.4. Ekstraksi Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> dengan Maserasi .....	62
4.5. Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Metanol .....	64

4.6. Uji Aktivitas Antibakteri .....	69
4.7. Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	80
4.7.1. Steroid .....	82
4.7.2. Tanin .....	84
4.8. Mikroalga dalam Persepektif Islam .....	86
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1. Kesimpulan .....	91
5.2. Saran .....	91
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>92</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kandungan Gizi Kacang Hijau dan Kecambah Kacang Hijau per 100 Gram Berat Kering .....	19
Tabel 2.2. Beberapa Pelarut Organik dan Sifat Fisiknya .....	21
Tabel 2.3. Perbedaan Relatif Antara Gram Positif dan Gram Negatif .....	26
Tabel 2.4. Komposisi Media NA dan NB .....	30
Tabel 3.1. Rancangan Penelitian .....	46
Tabel 4.1. Hasil Maserasi Ekstrak Metanol Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	63
Tabel 4.2. Hasil Partisi dan Rendemen Untuk Masing-Masing Pelarut .....	68
Tabel 4.3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>E. Coli</i> .....	71
Tabel 4.4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>S. Aureus</i> .....	73
Tabel 4.5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak <i>Chlorella sp.</i> .....	82



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. <i>Chlorella sp</i> .....	13
Gambar 2.2. Struktur sel <i>Chlorella sp.</i> .....	14
Gambar 2.3. Kurva pertumbuhan <i>Chlorella sp.</i> .....	17
Gambar 2.4. Struktur Sel Bakteri .....	24
Gambar 2.5. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
Gambar 2.6. <i>Eschericia coli</i> .....	29
Gambar 2.7. Grafik pertumbuhan bakteri .....	30
Gambar 2.8. Kerangka dasar flavonoid .....	39
Gambar 2.9. Struktur inti alkaloid .....	40
Gambar 2.10. Struktur inti senyawa steroid .....	41
Gambar 2.11. Senyawa triterpenoid .....	41
Gambar 2.12. Struktur inti tanin .....	42
Gambar 4.1. Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> Hasil Uji Taksonomi .....	58
Gambar 4.2. Medium Ekstrak Tauge (MET) .....	58
Gambar 4.3. Perubahan warna Kultur <i>Chlorella sp.</i> .....	59
Gambar 4.4. Biomassa Mikroalga <i>Chlorella sp.</i> .....	62
Gambar 4.5. Hasil Hidrolisis .....	64
Gambar 4.6. Mekanisme Reaksi hidrolisis .....	66
Gambar 4.7. Zona Hambat Ekstrak Petroleum Eter <i>Chlorella Sp.</i> Terhadap <i>S. Aureus</i> .....	74
Gambar 4.8. Zona Hambat Ekstrak n-Heksana <i>Chlorella Sp.</i> Terhadap <i>S. Aureus</i> .....	75
Gambar 4.9. Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat <i>Chlorella Sp.</i> Terhadap <i>S. Aureus</i> .....	76
Gambar 4.10. Zona Hambat Ekstrak Kloroform <i>Chlorella Sp.</i> Terhadap <i>S. Aureus</i> .....	77
Gambar 4.11. Reaksi Dugaan Antara Steroid Dengan Reagen LB .....	83
Gambar 4.12. Jenis Tanin .....	85
Gambar 4.13. Reaksi Dugaan Antara Tanin Dengan Gelatin .....	86

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja .....	103
Lampiran 2. Pembuatan Reagen dan perhitungan .....	112
Lampiran 3. Perhitungan Uji Aktivitas Antibakteri .....	115
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air .....	117
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen .....	120
Lampiran 6. Uji Aktivitas antibakteri dan Uji Statistik .....	123
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian .....	128



**ABSTRAK**

Utami, Kiswanti Surya. 2014. **Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, Dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.***

Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Pembimbing II: Tri Kustono Adi, M.Sc; Konsultan: Anik Maunatin, M.P

---

**Kata Kunci:** *Chlorella sp.*, Hidrolisis, Antibakteri, *E. coli*, *S. aureus*.

*Chlorella sp.* merupakan salah satu jenis mikroalga yang mempunyai potensi cukup besar dalam menghasilkan produk-produk yang bermanfaat. Pemanfaatan *Chlorella sp.* dibidang kesehatan masih kurang dikembangkan, oleh karena itu pada penelitian ini *Chlorella sp.* dimanfaatkan sebagai antibakteri. Penggunaan antibakteri diharapkan dapat menanggulangi keberadaan bakteri patogen yang berbahaya bagi manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. Aureus*, serta untuk mengetahui golongan senyawa aktif mikroalga *Chlorella sp.* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi.

Kultivasi mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan dengan menggunakan Medium Ekstrak Tauge (MET). Biomassa *Chlorella sp.* yang didapatkan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol dari masing-masing fase dihidrolisis dan dipartisi menggunakan variasi pelarut n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat. Hasil dari masing-masing ekstrak diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram, dengan variasi konsentrasi 0,5 %; 1 %; 1,5 %; 2 %; 2,5 % terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi selanjutnya diuji fitokimia.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua ekstrak *Chlorella sp.* tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*. Sedangkan, ekstrak petroleum eter *Chlorella sp.* memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *S. aureus*, dengan zona hambat sebesar 10 mm pada konsentrasi 2,5 %. Hasil identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak *Chlorella sp.* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi menunjukkan adanya golongan senyawa steroid.



## ABSTRACT

Utami, Kiswanti Surya. 2014. The Antibacterial Activity Fraction Test Ethyl Acetate, Chloroform, Petroleum Ether, and n-Hexane Methanol Extracts Hydrolysis results Microalgae *Chlorella sp.*

Lector I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Lector II: Tri Kustono Adi, M.Sc; Lector Consultant: Anik Maunatin, M.P

---

Keywords: *Chlorella sp.*, Hydrolysis, Antibacterial, *E. coli*, *S. aureus*.

*Chlorella sp.* is one kind of microalgae that have a large enough potential to produce useful products. Utilization of *Chlorella sp.* the health sector is still under-developed, therefore in this study *Chlorella sp.* used as an antibacterial. The use of antibacterial expected to cope with the presence of pathogenic bacteria that are harmful to humans. This study aims to determine the antibacterial activity of ethyl acetate fraction, chloroform, petroleum ether, n-hexane and methanol extracts of microalgae *Chlorella sp.* against *E. coli* and *S. aureus*, as well as to determine the class of microalgae *Chlorella sp.* active compounds. which has the highest antibacterial activity.

Cultivation of microalgae *Chlorella sp.* performed using Sprouts Extract Medium (MET). Biomass of *Chlorella sp.* obtained was extracted using the method of maceration with methanol. The methanol extract of each phase is hydrolyzed and partitioned using n-hexane solvent variations, petroleum ether, chloroform, and ethyl acetate. The results of each extract were tested antibacterial activity using the disc diffusion method, with the variations in concentration of 0,5 %; 1 %; 1,5 %; 2 %; 2,5 % of the bacteria *E. coli* and *S. aureus*. Results extract that has the highest antibacterial activity were further tested phytochemicals.

The results showed that all the extracts of *Chlorella sp.* does not have antibacterial activity against *E. coli* bacteria. Meanwhile, petroleum ether extract of *Chlorella sp.* has the highest antibacterial activity against *S. aureus*, with inhibition zones of 10 mm at a concentration of 2,5 %. The results of the identification of classes of active compounds extract of *Chlorella sp.* which has the highest antibacterial activity showed a group of steroid compounds.

### مستخلص البحث

يوتامي، كيسوانتيسوريا، الساعة ٢٠١٤. الآخر جزء مضاد للجراثيم اختبار خلاص الإيثيل، كلوروفورم، الأثير البترول، ون الهكسين الميثانول مقتطفات التحلل النتائج الطحالب طحلب .  
المشرف الأول: أحمد غنام فشا الماجستير ؛ المشرف الثاني: تري كونطارا أدي الماجستير ؛ المشرف مستشار: أنيكماوعنة الماجستير

الكلمات الرئيسية: طحلب، التحلل، مضاد للجراثيم، كولاي، بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية .

الطحلب هو نوع واحد من الطحالب التي لديها إمكانات كبيرة بما يكفي لإنتاج منتجات مفيدة. استخدام طحلب. القطاع الصحي لا يزال قيد نمواً، وبالتالي في هذه الدراسة طحلب. استخدامها بوصفها مضادة للجراثيم. استخدام مضاد للجراثيم المتوقع للتعامل مع وجود البكتيريا المسببة للأمراض التي تضر البشر. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد النشاط المضاد للبكتيريا من خلاص الإيثيل جزء، والكلوروفورم والأثير البترول، ن الهكسان والميثانول مقتطفات من الطحالب طحلب. ضد الإشريكية القولونية بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية، وكذلك لتحديد ففة من المركبات النشطة الطحالب طحلب. التي لديها أعلى نشاط مضاد للجراثيم .

الطحالب زراعة طحلب. تنفيذها باستخدام براعم استخراج متوسطة (MET) الكتلة الحيوية من طحلب. تم الحصول عليها تم استخراج باستخدام أسلوب النقع مع الميثانول. وتحلل استخراج الميثانول من كل مرحلة وتقسيم باستخدام الاختلافات ن الهكسين المذيبات، الأثير البترول، والكلوروفورم، وخلاص الإيثيل. تم اختبار نتائج كل مستخلص النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة الانتشار القرصي، مع الاختلافات في تركيز ٠.٥٪؛ ١٪؛ ١.٥٪؛ ٢٪؛ ٢.٥٪ من البكتيريا الإشريكية القولونية بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية. استخراج النتائج أن لديها أعلى نشاط مضاد للجراثيم وكذلك اختبار المواد الكيميائية النباتية .  
النتائج أظهرت أن جميع مستخلصات طحلب. ليس لديها النشاط المضاد للبكتيريا ضد البكتيريا القولونية وفي الوقت نفسه، البترول استخراج الأثير من طحلب. لديها أعلى نشاط مضاد للجراثيم ضد بكتريا المكورة العنقودية البرتقالية، مع مناطق تثبيط ١٠ مم بتركيز ٢.٥٪. نتائج تحديد ففات من المركبات النشطة استخراج من طحلب. التي أظهرت أعلى نشاط مضاد للجراثيم مجموعة من مركبات الستيرويد.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Allah SWT berfirman dalam surat asy Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

*"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik" (Qs. asy Syu'ara:7).*

Ayat tersebut mengisyaratkan bahwa Allah SWT memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya, jika mereka melihat dengan hati dan mata mereka niscaya mereka akan mengetahui bahwa Allah SWT yang berhak untuk disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu (Qurthubi, 2009). Allah SWT yang Maha Kuasa telah menciptakan tumbuh-tumbuhan yang baik untuk kepentingan manusia sebagai bukti akan kekuasaan Allah SWT, yang menjadikan-Nya berhak disembah (Qarni, 2008). Allah SWT menciptakan segala sesuatu di alam ini bukanlah dengan sia-sia. Seperti yang sudah dijelaskan dalam ayat tersebut, bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan yang baik untuk dapat dimanfaatkan oleh manusia. Manfaat tumbuhan salah satunya adalah digunakan sebagai obat. Salah satu jenis tumbuhan yang terdapat di Indonesia dan memiliki potensi sebagai obat adalah tumbuhan mikroalga. Karena itu, perlu adanya penelitian yang mendukung akan potensinya sebagai obat.

Indonesia memiliki banyak keanekaragaman hayati. Keanekaragaman hayati di Indonesia memiliki peluang besar untuk dimanfaatkan secara efektif dan maksimal. Contoh keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia adalah jenis tumbuh-tumbuhan. Kabinawa (2001) mikroalga merupakan tumbuhan tingkat rendah yang tidak memiliki akar batang dan daun. Borowitzka dan Lesley (1988) mikroalga memiliki keunggulan dibandingkan dengan makroalga dan tumbuhan tingkat tinggi lainnya. Keunggulan mikroalga antara lain: hidupnya tidak tergantung musim, tidak memerlukan waktu yang lama untuk memanennya, serta tidak memerlukan tempat yang luas.

Mikroalga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif (Borowitzka dan Lesley, 1988). Mikroalga adalah produsen alami dari ekosistem perairan yang dapat menghasilkan metabolit yang sangat bermanfaat, sehingga keberadaannya sebagai organisme hidup yang berukuran mikroskopis sudah mulai banyak dikaji (Damianus, 2011). Salah satu contoh mikroalga adalah *Chlorella sp.*, yang memiliki tubuh seperti bola dan berwarna hijau.

Komposisi kimia *Chlorella sp.* terdiri dari protein, karbohidrat, lipid, dan senyawa-senyawa lain yang belum diketahui (Ben-Amotz, dkk., 1987). Karena itu, *Chlorella sp.* merupakan mikroalga yang memiliki potensi cukup besar dalam menghasilkan produk-produk yang sangat bermanfaat. Saat ini mikroalga *Chlorella sp.* cenderung banyak dimanfaatkan sebagai biodiesel. Pemanfaatan *Chlorella sp.* dibidang kesehatan masih kurang dikembangkan, oleh karena itu pada penelitian ini *Chlorella sp.* dimanfaatkan sebagai antibakteri. Menurut

Setyaningsih, dkk. (2005) antibakteri yang dihasilkan oleh *Chlorella sp.* merupakan antibakteri alami yang mempunyai kelebihan yaitu lebih aman penggunaannya.

Penggunaan antibakteri diharapkan dapat menanggulangi keberadaan bakteri patogen yang dapat merugikan dan menyebabkan penyakit bagi manusia. Bakteri yang merugikan manusia karena dapat menyebabkan penyakit diantaranya adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Entjang (2003) bakteri *E. coli* adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit-penyakit saluran pencernaan seperti disentris, diare dan endokarditis. Sedangkan bakteri *S. aureus* dapat menimbulkan penyakit seperti infeksi pada folikel rambut, bisul, infeksi pada luka, meningitis, dan pneumonia (radang paru-paru). Penyakit pneumonia ini selain disebabkan oleh bakteri *S. aureus* juga disebabkan oleh bakteri *E. coli*. Bakteri *E. coli* merupakan salah satu contoh bakteri gram negatif, sedangkan bakteri *S. aureus* merupakan salah satu contoh bakteri gram positif. Kedua bakteri ini memiliki perbedaan struktur dinding sel sehingga menyebabkan perbedaan kesensitifan bakteri terhadap senyawa tertentu.

Lenny (2006) mengatakan bahwa pemilihan pelarut untuk proses ekstraksi akan memberikan efektivitas yang berbeda dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh metabolit sekunder. Yudha (2008) mengekstraksi mikroalga *Dunaliella sp.* dengan menggunakan variasi pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Rendemen ekstrak kering yang

didapatkan pada ekstrak pelarut metanol (2,59 %) lebih besar dibandingkan dengan rendemen ekstrak pelarut etil asetat (1,94 %) dan pelarut n-heksana (1,29 %). Amaliyah (2013) melakukan ekstraksi terhadap mikroalga *Chlorella sp.* dengan menggunakan variasi pelarut yaitu metanol, etil asetat dan n-heksana, didapatkan rendemen ekstrak metanol *Chlorella sp.* (7,001 %) lebih besar dibandingkan dengan rendemen ekstrak etil asetat (3,673 %) dan n-heksana (0,004 %). Penelitian dengan pelarut metanol juga dilakukan oleh Khamidah (2013) terhadap mikroalga *Chlorella sp.* dan didapatkan rendemen ekstrak *Chlorella sp.* sebesar 12,182 %. Hal ini menunjukkan bahwa mikroalga lebih banyak mengandung senyawa yang dapat larut dalam pelarut metanol (polar).

Miftahurrahmah (2012) melakukan ekstraksi alga merah *Eucheuma spinosum* menggunakan pelarut metanol dan didapatkan rendemen sebesar (16,25 %), kemudian dilakukan perlakuan lebih lanjut yaitu hidrolisis menggunakan HCl 2 N dan ekstraksi cair-cair untuk mengekstrak metabolit sekunder dengan menggunakan variasi pelarut yaitu kloroform, etil asetat, butanol, petroleum eter dan n-heksana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak yang telah dihidrolisis lebih besar dibandingkan sebelum dihidrolisis, dengan diameter zona hambat tertinggi sebesar 6 mm untuk bakteri *E. coli* dan 5,5 mm untuk bakteri *S. aureus* pada pelarut petroleum eter dan diameter zona hambat ekstrak metanol (sebelum dihidrolisis) untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus* masing-masing sebesar 3 mm dan 4 mm. Semakin besar diameter zona hambat suatu senyawa uji maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram adalah kertas cakram dijenuhkan dengan cara direndam ke dalam senyawa antibakteri. Kertas cakram yang mengandung senyawa antibakteri tertentu diletakkan pada media pembenihan yang telah dicampur dengan bakteri uji, kemudian diinkubasi, selanjutnya diamati adanya zona bening di sekitar kertas cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Khamidah (2013) melakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dari ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* pada fase pertumbuhan *Chlorella sp.* yang meliputi fase  $\frac{1}{2}$  eksponensial, fase  $\frac{3}{4}$  eksponensial, fase awal stasioner, fase stasioner, dan fase akhir stasioner. Hasil zona hambat tertinggi terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* diperoleh pada fase stasioner di hari ke-10. Setyaningsih (1999) melakukan penelitian tentang ekstraksi dan uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Chlorella sp.* didapatkan aktivitas ekstrak senyawa antibakteri yang terbaik adalah ekstrak yang dihasilkan pada fase stasioner.

Pelczar dan Chan (1988) beberapa kelompok golongan senyawa antibakteri adalah fenol dan persenyawaan fenolat, alkohol, serta aldehid. Rostini (2007) untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak mikroalga terutama *Chlorella sp.* dibutuhkan media kultur yang sesuai dengan biomasnya, untuk mendukung proses pertumbuhan (kultivasi). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultivasi *Chlorella sp.* diantaranya kualitas air yang meliputi: suhu, pH, salinitas, dan kekuatan cahaya. Medium yang digunakan

untuk pertumbuhan *Chlorella sp.* juga harus diperhatikan karena termasuk salah satu faktor penting dalam kultivasi.

Salah satu media alami yang dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroalga *Chlorella sp.* adalah Medium Ekstrak Tauge (MET), karena media tersebut mengandung unsur makro dan mikro, vitamin, mineral serta asam amino yang dibutuhkan bagi pertumbuhan mikroalga (Richmond, 1986). Menurut Wulandari, dkk. (2010) kandungan makronutrien Medium Ekstrak Tauge (antara lain: K, P, Ca, Mg dan Na) yang dibutuhkan oleh sel mikroalga sebagai komponen penyusun sel dan kandungan mikronutrien (antara lain: Fe, Zn, Mn dan Cu) yang dibutuhkan oleh sel sebagai kofaktor enzim maupun komponen pembentuk klorofil. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa penggunaan Medium Ekstrak Tauge menghasilkan pertumbuhan mikroalga yang sangat pesat dibandingkan dengan medium lainnya yaitu Medium Air Laut (MAL) dan Medium Guillard (MG).

Hasil penelitian Prihantini, dkk. (2005) menunjukkan bahwa *Chlorella sp.* yang dikultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge dapat menghasilkan kerapatan sel yang cukup tinggi yaitu sebesar  $5,7 \times 10^6$  sel/mL pada fase stasioner (pH 7). Pada penelitian lain yang dilakukan Khamidah (2013) kultivasi mikroalga *Chlorella sp.* dalam Medium Ekstrak Tauge 4 % menghasilkan kelimpahan sel tertinggi sebesar  $4,88 \times 10^6$  sel/mL pada fase stasioner (pH 7).

Berdasarkan hasil tersebut, pada penelitian ini digunakan sampel isolat *Chlorella sp.* yang dikultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge 4 % pada fase stasioner (pH 7). Hal ini dikarenakan diantara lima fase pertumbuhan



*Chlorella sp.* (fase adaptasi, fase eksponensial, fase penurunan laju pertumbuhan, fase stasioner dan fase kematian), fase stasioner merupakan fase dimana *Chlorella sp.* memproduksi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang berpotensi memiliki bioaktivitas. Biomassa yang dihasilkan dari kultivasi tersebut kemudian diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut metanol dan dihidrolisis menggunakan pelarut HCl 2 N kemudian dipartisi menggunakan variasi pelarut etil asetat, kloroform, petroleum eter dan n-heksana. Masing-masing ekstrak akan diujikan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, untuk mengetahui aktivitasnya sebagai antibakteri. Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi kemudian diidentifikasi golongan senyawa aktifnya menggunakan uji reagen. Uji reagen yang dilakukan meliputi uji flavonoid, uji alkaloid, uji steroid, uji triterpenoid dan uji tanin.

### 1.1. Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.*?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat dalam fraksi hasil hidrolisis ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi?

## 1.2. Tujuan Penelitian

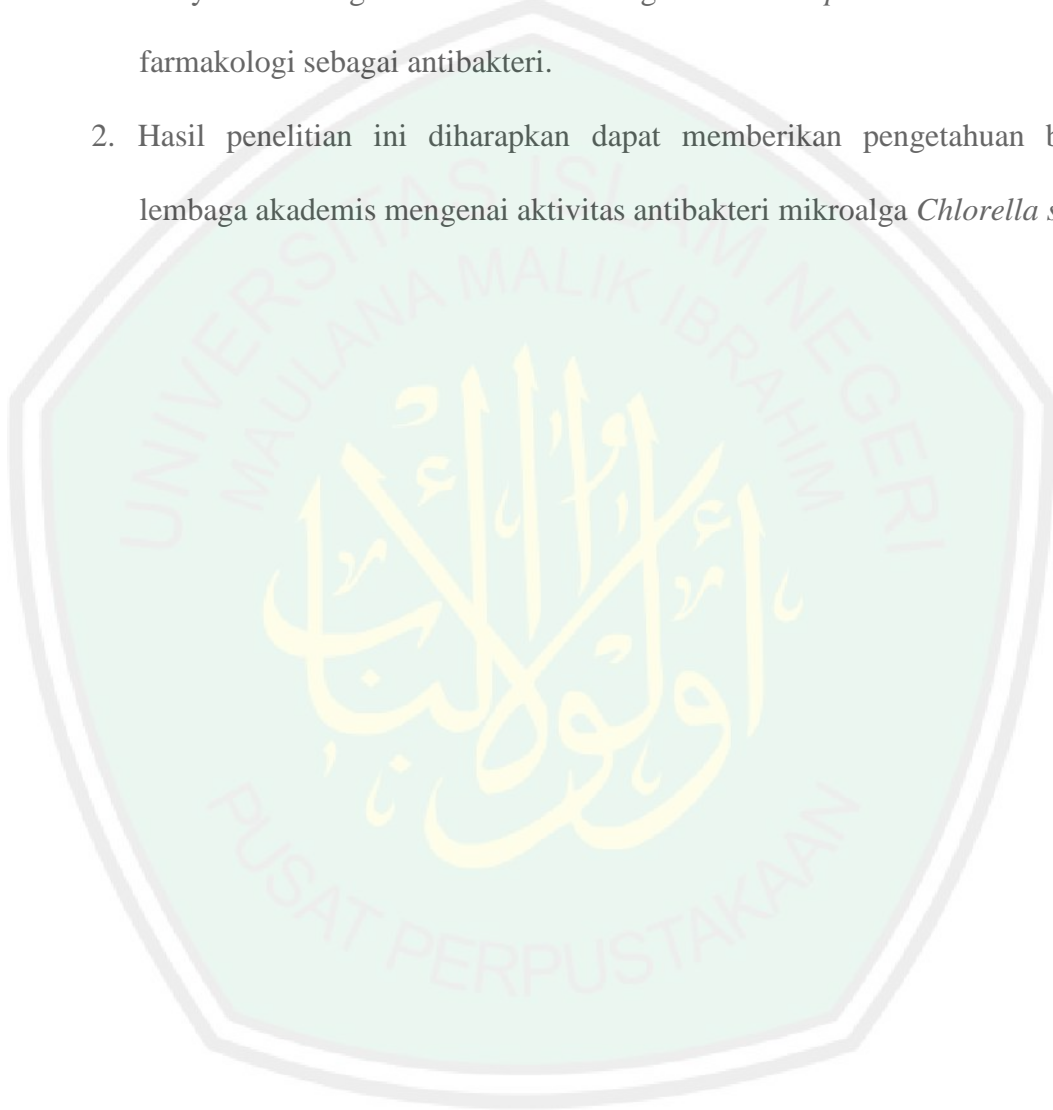
1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.*
2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi hasil hidrolisis ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi.

## 1.3. Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah isolat mikroalga *Chlorella sp.* yang diperoleh dari Laboratorium Ekologi Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Kultivasi mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan pada medium ekstrak tauge kacang hijau. Kultivasi dikondisikan pada pH 7, suhu ruang (25 – 30 °C) dan intensitas cahaya 1000 – 4000 lux.
3. Pelarut yang digunakan untuk partisi hasil hidrolisis ekstrak metanol *Chlorella sp.* adalah etil asetat, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana.
4. Metode pengujian aktivitas antibakteri menggunakan difusi cakram
5. Uji kualitatif golongan senyawa aktif dalam ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan pada fraksi dengan aktivitas antibakteri tertinggi dengan menggunakan uji reagen.

#### 1.4. Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat mengenai manfaat mikroalga *Chlorella sp.* terutama di bidang farmakologi sebagai antibakteri.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi lembaga akademis mengenai aktivitas antibakteri mikroalga *Chlorella sp.*



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Mikroalga

Allah SWT berfirman dalam surat Al Jaatsiyah ayat 13 :

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعاً مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ  
يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

*Artinya: “Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang ada di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir” (Qs. Al Jaatsiyah:13).*

Ayat di atas menerangkan bahwa Allah SWT menundukkan segala sesuatu yang ada di langit, seperti matahari, bulan, bintang, galaksi, dan awan bagi hamba-hamba-Nya. Dia juga menundukkan semua yang ada di bumi seperti hewan, tumbuhan, dan benda-benda mati agar semuanya dimanfaatkan oleh hamba-hamba-Nya. Semua nikmat ini, Allah SWT berikan kepada manusia agar mereka bersyukur dan mengikhlaskan ibadah hanya kepada-Nya. Semua yang Allah SWT tundukkan ini mengandung bukti-bukti kekuasaan, keesaan, dan keagungan Allah SWT yang nyata bagi orang-orang yang mau memikirkan, merenungi, dan mengambil manfaat darinya (Qarni, 2008).

Indonesia memiliki beragam jenis keanekaragaman hayati. Salah satu keanekaragaman hayati yang terdapat di Indonesia dan dapat dimanfaatkan untuk kehidupan manusia adalah tumbuhan mikroalga. Kabinawa (2001) mikroalga adalah

mikroorganisme dengan tingkat organisasi sel termasuk dalam tumbuhan tingkat rendah. Mikroalga dikelompokkan dalam filum Thallophyta karena tidak memiliki akar, batang dan daun sejati, namun memiliki zat pigmen klorofil yang mampu melakukan fotosintesis.

Romimohtarto (2004) mikroalga memiliki diameter antara 3 – 30  $\mu\text{m}$ , hidup diseluruh wilayah perairan tawar maupun laut, yang lazim disebut fitoplankton. Panggabean, dkk (2007) mikroalga juga memiliki bentuk yang bervariasi seperti filamen atau lembaran, spiral, dan bulat. Saat proses fotosintesis klorofil yang dimiliki mikroalga berfungsi untuk menangkap energi matahari dan karbon dioksida menjadi karbon organik yang berguna sebagai sumber energi bagi kehidupan konsumen seperti kopepoda, larva moluska, udang, dan lain-lain.

Mikroalga memiliki morfologi sel yang bervariasi (uniseluler atau multiseluler). Mikroalga juga termasuk produsen alami dari ekosistem perairan yang dapat menghasilkan energi. Selain itu mikroalga dapat menghasilkan metabolit yang sangat bermanfaat, sehingga keberadaannya sebagai organisme hidup yang berukuran mikroskopis sudah mulai banyak diteliti (Damianus, 2011). Mikroalga memiliki keunggulan dibandingkan dengan makroalga dan tumbuhan tingkat tinggi lainnya. Keunggulan mikroalga diantaranya: mudah untuk dibudidayakan karena hidupnya tidak tergantung musim, tidak memerlukan tempat yang luas, dan tidak memerlukan waktu yang lama untuk memanennya. Mikroalga juga mempunyai peranan penting dalam kehidupan di perairan karena mikroalga adalah produsen dalam perairan (Borowitzka dan Lesley, 1988).

Mikroalga terbagi menjadi 11 kelompok, yaitu Chlorophyta (alga hijau), Cyanophyta (alga hijau-biru), Rhodophyta (alga merah), Prochlorophyta (*bright-green algae*), Glaucophyta (alga air tawar mikroskopis), Heterokontophyta (alga coklat keemasan), Haptophyta (alga yang memiliki organel yang unik bernama haptonema), Cryptophyta (alga yang termasuk kelompok uniseluler yang unik dan tidak memiliki kedekatan dengan kelompok alga lainnya), Euglenophyta (organisme yang motil dan memiliki 1 – 3 flagella di bagian anteriornya), Dinophyta (suatu kelompok besar alga perairan yang berflagella), dan Chlorarachniophyta (kelompok kecil alga yang biasanya ditemukan di laut tropis) (Van Den Hoek, dkk., 2002).

Mikroalga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif. Potensi mikroalga sangat besar sebagai sumber berbagai produk, salah satunya sebagai sumber protein (Borowitzka dan Lesley, 1988). Menurut Becker (1994) berbagai macam komposisi biomassa mikroalga diantaranya: karbohidrat, protein, pigmen (klorofil dan karotenoid), lipid, asam amino, dan hidrokarbon. Karbohidrat yang dihasilkan dapat ditemukan dalam bentuk glukosa, pati, dan polisakarida yang lain.

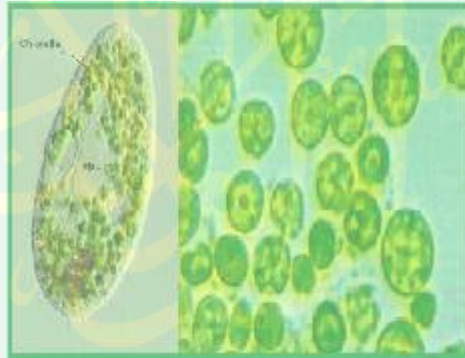
## 2.2. Mikroalga *Chlorella sp.*

Mikroalga *Chlorella sp.* merupakan salah satu jenis mikroalga Chlorophyta. Istilah *Chlorella* berasal dari bahasa latin yang terdiri dari kata “*chloros*” yang berarti hijau dan “*ella*” yang berarti kecil. Sel *Chlorella sp.* berukuran kecil yaitu antara 2 – 12  $\mu\text{m}$ , yang berbentuk bulat dan elips (Bold dan Wynne, 1985). Menurut Kumar

dan Singh (1976) *Chlorella sp.* memiliki diameter sel 3 – 8  $\mu\text{m}$ , tidak memiliki flagella sehingga tidak dapat bergerak aktif.

Klasifikasi *Chlorella sp.* (Bold dan Wynne, 1985) adalah sebagai berikut :

Divisi : Chlorophyta  
 Kelas : Chlorophyceae  
 Ordo : Chlorococcales  
 Famili : Oocystaceae  
 Genus : Chlorella  
 Spesies : *Chlorella sp.*



Gambar 2.1 *Chlorella sp.* (Andrian, 2013).

Secara morfologis sel *Chlorella sp.* hanya dapat dilihat dibawah mikroskop dengan struktur sel yang sangat sederhana. *Chlorella sp.* mempunyai kloroplas dan dinding sel yang tipis (Bold dan Wynne, 1985). Dinding sel *Chlorella sp.* terdiri dari selulosa dan pektin, tiap-tiap selnya terdapat satu buah inti dan satu kloroplas. Sel-selnya berbentuk bulat atau lonjong mempunyai satu kloroplas berbentuk mangkuk atau pita melengkung dengan atau tanpa pirenoid (Kumar dan Singh, 1979). Warna

hijau pada mikroalga ini disebabkan selnya mengandung klorofil a dan b dalam jumlah yang besar, di samping karotin dan xantofil (Bellinger dan Sigeo, 2010). Struktur sel *Chlorella sp.* terdiri dari nukleus (inti), *dense body* (badan golgi), kloroplas, pirenoid, mitokondria dan *starch* (pati) (Bold dan Wynne, 1985). Struktur sel *Chlorella sp.* ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Keterangan :

N = Nukleus (inti)  
 DB= Dense Body  
 Chl= Kloroplas  
 Py = Pirenoid  
 M = Mitokondria  
 St = Starch (pati)

Gambar 2.2 Struktur sel *Chlorella sp.* (Bold dan Wynne, 1985).

*Chlorella sp.* berkembangbiak secara vegetatif dengan pembentukan autospora. Masing-masing sel induk membelah menghasilkan 4, 8, atau 16 autospora yang dibebaskan bersama dengan pecahnya sel induk. Autospora yang telah dibebaskan akan membentuk sel *Chlorella sp.* baru (Bold dan Wynne, 1985).

Mikroalga *Chlorella sp.* mengandung beberapa senyawa kimia yang bermanfaat diantaranya: karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat (Becker, 1988). Jenis karbohidrat yang terkandung di dalam mikroalga kelas Chlorophyta adalah sukrosa (Borowitzka dan Lesley, 1988). Menurut Sachlan (1982) sel *Chlorella sp.* mengandung 50 % protein, lemak dan vitamin A, B, D, E, dan K, disamping banyak terdapat pigmen hijau (klorofil).



### 2.2.1. Faktor-faktor Pertumbuhan *Chlorella sp.*

Pertumbuhan *Chlorella sp.* dalam kultur dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: media, salinitas, unsur hara (nutrien), cahaya, suhu, derajat keasaman, nitrogen, dan karbondioksida (Bold dan Wynne, 1985). Media merupakan tempat hidup bagi *Chlorella sp.* yang pemilihannya ditentukan pada jenis mikroalga yang akan dikultivasi. Menurut Chilmawati dan Suminto (2010) penggunaan media kultur yang berbeda berpengaruh nyata terhadap waktu *lag phase* dan berpengaruh nyata terhadap konstanta pertumbuhan spesifik, puncak populasi dan kepadatan akhir *Chlorella sp.*

Pertumbuhan mikroalga akan optimal jika nutrien yang dibutuhkan cukup tersedia. Nutrien yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroalga terdiri dari makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien adalah nutrien yang diperlukan dalam jumlah besar untuk pertumbuhan sel *Chlorella sp.* yaitu C, H, O, N, K, Mg dan P. (Buri, 1977 dalam Kabinawa, dkk., 1994). Sedangkan mikronutrien adalah nutrien yang diperlukan dalam jumlah yang kecil tetapi harus ada (Kabinawa, 1994) berbagai unsur mikronutrien yang dibutuhkan meliputi seng, tembaga, boron adalah senyawa esensial bagi pertumbuhan sel (Becker, 1994).

*Chlorella sp.* membutuhkan suhu yang tinggi untuk pertumbuhannya. Kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan *Chlorella sp.* adalah antara 25 – 30 °C (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Kisaran derajat keasaman (pH) bervariasi mulai dari pH 6 – 8 (Borowitzka dan Lesley, 1988). Cahaya diperlukan bagi pertumbuhan mikroalga dan berperan dalam proses metabolisme sel seperti fotosintesis.

Cahaya merupakan sumber energi untuk melakukan proses fotosintesis. Penyinaran dengan lampu TL selama kultur digunakan sebagai pengganti cahaya matahari yang dimaksudkan untuk memberikan cahaya pada sel *Chlorella sp.* agar dapat melakukan proses fotosintesis. Intensitas cahaya yang baik bagi mikroalga untuk melakukan fotosintesis berkisar antara 2 – 3 kilo lux (Fogg, 1975).

### 2.2.2. Fase-fase Pertumbuhan *Chlorella sp.*

Lima fase pertumbuhan mikroalga, terdiri dari fase lag, fase logaritma atau fase eksponensial, fase transisional, fase stasioner, dan fase *death* (kematian) (Fogg, 1975):

#### 1. Fase lag atau adaptasi

Fase ini ditandai dengan ukuran sel meningkat, namun kepadatan belum bertambah, kultur mulai menyerap nutrisi yang terdapat pada medium kultur. Fase ini disebut juga sebagai fase adaptasi karena sel mikroalga sedang beradaptasi terhadap media tumbuhnya.

#### 2. Fase logaritma atau eksponensial

Fase ini diawali oleh pembelahan sel dan ditandai dengan naiknya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat. Laju pertumbuhannya meningkat dengan pesat dan sel aktif berkembang biak.

### 3. Fase transisional (penurunan laju pertumbuhan)

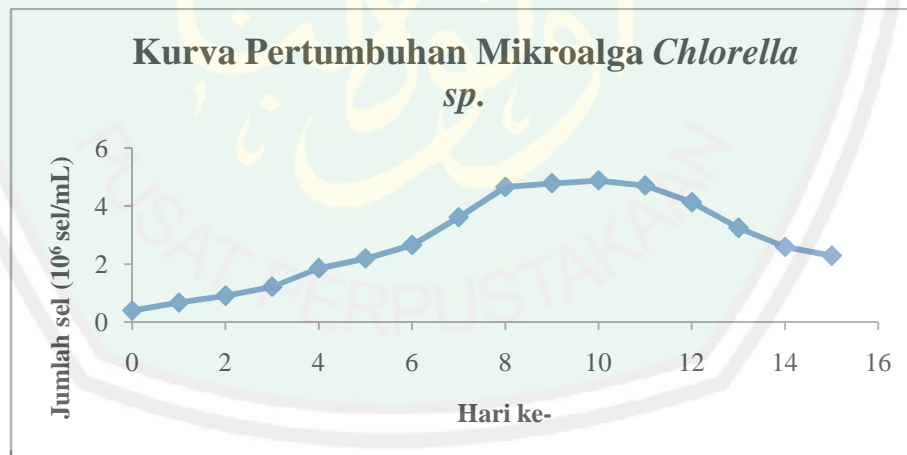
Fase ini ditandai dengan penurunan laju pertumbuhan. Selain itu terjadi penurunan populasi per satuan waktu bila dibandingkan dengan fase eksponensial sehingga fase ini disebut sebagai fase *decline*.

### 4. Fase stasioner

Pada fase ini pertumbuhan mengalami penurunan karena pembelahan sel mikroalga statis dibandingkan dengan fase logaritmatik. Laju reproduksi sama dengan laju kematian. Serta jumlah sel cenderung tetap diakibatkan sel telah mencapai titik jenuh. Seperti ditunjukkan pada Gambar 2.3.

### 5. Fase kematian

Fase ini ditandai dengan kepadatan populasi selnya yang terus berkurang.



Gambar 2.3 Kurva pertumbuhan *Chlorella sp.* (Khamidah, 2013).

Kurva pertumbuhan *Chlorella sp.* menunjukkan bahwa pada fase eksponensial dimulai pada hari ke-0 sampai hari ke-8. Fase stasioner dimulai pada

hari ke-8 sampai hari ke-11, sedangkan pada hari ke-11 dan seterusnya merupakan fase kematian (Khamidah, 2013).

### 2.2.3. Medium Ekstrak Tauge (MET)

Salah satu media untuk pertumbuhan mikroalga adalah Medium Ekstrak Tauge (MET). Ekstrak tauge merupakan media alami yang umum digunakan bagi pertumbuhan mikroalga. Menurut Wulandari, dkk., (2010) medium Ekstrak Tauge mengandung nutrisi anorganik seperti K, P, Ca, Mg, Na, Fe, Zn, Mn, dan Cu. Nutrisi anorganik yang tergolong makronutrisi yaitu K, P, Ca, Mg, dan Na dibutuhkan oleh sel mikroalga sebagai komponen penyusun sel. Mikronutrisi seperti Fe, Zn, Mn, dan Cu dibutuhkan oleh sel baik sebagai kofaktor enzim maupun komponen pembentuk klorofil. Mn, Zn, Cu, Mo, B, Ti, Cr, dan Co yang terdapat dalam media kultur akan mengefektifkan fotosintesis pada mikroalga. Fotosintesis yang berlangsung efektif akan mempengaruhi produk yang dihasilkan.

Kandungan gizi kacang hijau dan kecambah kacang hijau per 100 gram berat kering dapat dilihat pada Tabel 2.1. Kandungan protein, lemak, kalsium, fosfor, tiamin, riboflavin, niasin dan vitamin C pada kecambah kacang hijau lebih besar dibandingkan dengan biji kacang hijau. Sebagian besar kandungan gizi yang dihasilkan oleh kecambah lebih besar dibandingkan dengan biji kacang hijau.

Hasil penelitian Wulandari, dkk. (2010) menunjukkan bahwa penggunaan Medium Ekstrak Tauge menghasilkan pertumbuhan mikroalga yang sangat pesat dibandingkan dengan medium lainnya yaitu Medium Air Laut (MAL) dan Medium

Guillard (MG). Prihantini, dkk. (2007) menyebutkan bahwa konsentrasi Medium Ekstrak Tauge optimum bagi mikroalga *Schenedesmus* selama 10 hari pengamatan adalah MET 4 %. Hasil penelitian Prihantini, dkk. (2005) menunjukkan bahwa *Chlorella sp.* yang dikultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge dapat menghasilkan kerapatan sel yang cukup tinggi yaitu sebesar  $5,7 \times 10^6$  sel/mL dengan pH awal 7 yang dicapai pada pengamatan hari ke-10. Nilai derajat keasaman (pH) juga berpengaruh terhadap kerapatan sel *Chlorella sp.* yang diperoleh. Khamidah (2013) hasil penelitian juga menunjukkan bahwa *Chlorella sp.* yang dikultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge 4 % dapat menghasilkan kelimpahan sel tertinggi sebesar  $4,88 \times 10^6$  sel/mL pada fase stasioner dihari ke-10.

Tabel 2.1 Kandungan gizi kacang hijau dan kecambah kacang hijau per 100 gram berat kering

Komposisi Gizi	Nilai Gizi	
	Dalam Biji	Dalam Kecambah
Kalori (kal)	382	354
Karbohidrat (g)	67,22	44,79
Protein (g)	27,10	38,54
Lemak (g)	1,78	12,50
Kalsium (mg)	263,91	1729,17
Fosfor (mg)	377,51	770,83
Besi (mg)	8,88	8,33
Natrium (mg)	-	-
Kalium (mg)	-	-
Karoten (mg)	263,91	208,33
Tiamin (mg)	0,54	0,94
Riboflavin (mg)	0,18	1,56
Niasin (mg)	1,78	11,46
Vitamin C (mg)	11,83	52,08

Sumber: PERSAGI (2009) dalam Fahriyani (2011)

#### 2.2.4. Manfaat *Chlorella sp.* sebagai Antibakteri

Steenblock (1996) *Chlorella sp.* merupakan mikroalga yang memiliki potensi cukup besar dalam menghasilkan produk-produk yang sangat bermanfaat. *Chlorella sp.* dapat dikembangkan untuk pangan sehat sebagai sumber protein, vitamin dan mineral. Menurut Sidabutar (1999) manfaat *Chlorella sp.* diantaranya adalah berkembangbiak dengan cepat pada kondisi tumbuhnya, mudah dalam membudidayakannya, dapat mengubah CO<sub>2</sub> menjadi O<sub>2</sub>, keseluruhan organnya dapat dimanfaatkan, mengandung protein yang tinggi dengan komponen asam amino utama, mengandung beberapa vitamin dengan kadar yang cukup tinggi, mengandung banyak klorofil, dan mengandung senyawa antimikroba.

Hasil penelitian Setyaningsih, dkk. (1999) menunjukkan bahwa produksi senyawa antibakteri oleh *Chlorella sp.* sudah berlangsung pada fase log pada umur kultur 8 hari. Aktivitas ekstrak senyawa antibakteri yang terbaik adalah ekstrak yang dihasilkan pada fase stasioner. Khamidah (2013) melakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* pada fase pertumbuhan *Chlorella sp.* yang meliputi fase  $\frac{1}{2}$  eksponensial, fase  $\frac{3}{4}$  eksponensial, fase awal stasioner, fase stasioner, dan fase akhir stasioner, didapatkan hasil zona hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* tertinggi adalah pada fase stasioner di hari ke-10 yaitu 9,9 mm dan 12 mm.

Sriwardani (2000) melaporkan bahwa ekstrak intraseluler mikroalga *Chlorella sp.* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* sebesar 46,2 %. Hasil penelitian

Setyaningsih (2005) ekstrak intraseluler kasar *Chlorella sp.* mempunyai aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*.

### 2.3. Ekstraksi Komponen Aktif *Chlorella sp.*

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan susbtansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Kristanti, dkk., 2008). Metode ekstraksi tergantung pada kelarutan senyawa yang akan diekstrak. Suatu senyawa akan mudah larut pada pelarut yang memiliki sifat kepolarannya yang sama. Semakin besar konstanta dielektrik, maka semakin polar pelarut tersebut. Mulyono (2009) pada umumnya proses ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan.

Hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan jenis pelarut adalah daya melarutkan, titik didih, sifat toksik, mudah tidaknya terbakar, dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Karger, dkk., 1973). Beberapa pelarut organik dan sifat fisiknya dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Beberapa pelarut organik dan sifat fisiknya

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih (°C)	Konstanta Dielektrikum	Polaritas*	Massa jenis (g/mL)
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	65	33	5.1	0,791
Air	H <sub>2</sub> O	100	80	10.2	1.000
Heksana	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	69	2.0	0.1	0.660
Kloroform	CHCl <sub>3</sub>	61	4.8	4.1	1.483
Etil asetat	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OC(O)CH <sub>3</sub>	77	6.0	4.4	0.900

Sumber : Nur dan Adijuwana (1989).

Prinsip metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik adalah bahan yang akan diekstrak kontak langsung dengan pelarut selama waktu tertentu, kemudian diikuti dengan pemisahan bahan yang telah diekstrak (Hostettmann, dkk., 1997 dalam Yudha, 2008). Alkohol merupakan pelarut universal yang baik untuk ekstraksi semua golongan senyawa metabolit sekunder (Kristanti, dkk., 2008).

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak bahan alam adalah metode maserasi. Maserasi yaitu metode ekstraksi dengan cara merendam bahan dalam pelarut dalam suhu ruangan atau tanpa pemanasan (Lenny, 2006). Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 1987). Senyawa-senyawa polar akan terpisah dengan baik jika digunakan pelarut polar dan senyawa-senyawa non polar akan terpisah dengan baik bila digunakan pelarut non polar, dimana sifat kelarutan zat didasarkan pada teori *like dissolves like* (Nur dan Adjuwana, 1989). Pada penelitian ini digunakan pelarut yang bersifat polar yaitu metanol.

Beberapa penelitian lain yang melakukan ekstraksi maserasi mikroalga *Chlorella sp.* menggunakan pelarut metanol, diantaranya yaitu Yudha (2008) mengekstraksi mikroalga *Dunaliella sp.* dengan menggunakan variasi pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Rendemen ekstrak kering yang didapatkan pada ekstrak pelarut metanol (2,59 %) lebih besar dibandingkan dengan rendemen ekstrak pelarut etil asetat (1,94 %) dan pelarut n-heksana (1,29 %). Khamidah (2013) mengekstrak *Chlorella sp.* menggunakan metanol dan didapatkan rendemen ekstrak sebesar 12,182 %. Amaliyah (2013) melakukan ekstraksi terhadap mikroalga



*Chlorella sp.* dengan menggunakan variasi pelarut yaitu metanol, etil asetat dan n-heksana, didapatkan rendemen ekstrak metanol *Chlorella sp.* (7,001 %) lebih besar dibandingkan dengan rendemen ekstrak etil asetat (3,673 %) dan ekstrak n-heksana (0,004 %).

Hidrolisis merupakan reaksi yang terjadi antara suatu senyawa dan air dengan membentuk reaksi kesetimbangan, selain bereaksi air juga berperan sebagai medium reaksi sedangkan senyawanya dapat berupa senyawa anorganik maupun senyawa organik (Mulyono, 2009). Beberapa senyawa organik yang ada di dalam tanaman, umumnya berbentuk glikosida, yaitu senyawa yang terdiri dari gula (glikon) dan senyawa bukan gula (aglikon). Umumnya bagian glikon bersifat polar dan bagian aglikon bersifat polar, semi polar, maupun non polar. Senyawa metabolit primer tergolong dalam senyawa glikon, sedangkan metabolit sekunder tergolong dalam senyawa aglikon (Didik, 2004). Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekundernya saja dapat dilakukan dengan pemutusan ikatan glikosida menggunakan reaksi hidrolisis (Saifudin, dkk., 2006).

Miftahurrahmah (2012) melakukan ekstraksi alga merah *Eucheuma spinosum* menggunakan pelarut methanol, kemudian dilakukan perlakuan lebih lanjut yaitu hidrolisis menggunakan HCl 2 N dan ekstraksi cair-cair untuk mengekstrak metabolit sekunder dengan menggunakan variasi pelarut yaitu kloroform, etil asetat, butanol, petroleum eter dan n-heksana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak yang telah dihidrolisis lebih besar dibandingkan sebelum dihidrolisis, dengan diameter zona hambat tertinggi sebesar 6 mm untuk bakteri *E.*

*coli* dan 5,5 mm untuk bakteri *S. aureus* pada pelarut petroleum eter dan diameter zona hambat ekstrak metanol (sebelum dihidrolisis) untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus* masing-masing sebesar 3 mm dan 4 mm. Semakin besar diameter zona hambat suatu senyawa uji maka semakin tinggi aktivitas antibakterinya.

## 2.4. Aktivitas Antibakteri

### 2.4.1. Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang berukuran mikroskopis. Sel-sel individu bakteri dapat berbentuk seperti elips atau bola (*kokus*), batang (*basilus*), atau spiral (heliks) (Pelczar dan Chan, 1986). Bakteri berkembangbiak dengan membelah diri (Waluyo, 2004). Struktur sel bakteri terdiri dari flagella, dinding sel, kapsul, dan sitoplasma. Gambar umum dari struktur sel bakteri yang terdiri atas bagian luar dan protoplasma dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur sel bakteri (Irianto, 2006).

Membran sitoplasma disebut juga membran sel yang merupakan pembungkus daripada sitoplasma. Membran ini akan ikut menyusut bersama-sama dengan

menyusutnya sitoplasma pada waktu mengalami plasmolisis. Membran sitoplasma terdiri atas protein dan lipid (Dwidjoseputro, 2005). Membran tersebut sangat penting untuk sel dan mempunyai tiga fungsi utama yaitu memelihara tekanan osmosis intraseluler, sebagai sistem transport aktif, dan menyediakan tempat untuk reaksi utama enzim. Sitoplasma bukan merupakan substansi yang homogen dan terdiri dari bermacam-macam zat dan struktur yang berada dalam membran sel, kecuali materi nukleus (Irianto, 2006). Sitoplasma merupakan suatu koloid yang mengandung karbohidrat, protein, enzim-enzim, juga belerang, kalsium karbonat, dan *volutin* (Dwidjoseputro, 2005).

Dinding sel dari suatu bakteri menentukan bentuk sel. Beberapa komponen dari dinding sel seperti asam teikhoik dan lipopolisakarida melindungi sel dari kegiatan lisis enzim. Kekakuan dan kekuatan dinding sel itu terutama disebabkan oleh serat-serat yang kuat yang umumnya tersusun dari peptidoglikan (Irianto, 2006). Fungsi dinding sel adalah untuk memberi bentuk tertentu pada sel, untuk memberi perlindungan, untuk mengatur keluar-masuknya zat-zat kimia, serta dinding sel memegang peranan dalam pembelahan sel (Dwidjoseputro, 2005).

Susunan kimiawi dan struktur peptidoglikan khas untuk masing-masing bakteri. Perbedaan pada dinding sel inilah yang dimanfaatkan dalam mengelompokkan bakteri berdasarkan teknik pewarnaan gram. Berdasarkan teknik tersebut bakteri dibagi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Pelczar dan Chan, 1986). Menurut Irianto (2006) komponen penyusun

dinding sel bakteri positif adalah peptidoglikan, sedangkan komponen penyusun bakteri gram negatif terdiri dari peptidoglikan, lipopolisakarida, dan lipoprotein.

Bakteri gram positif yaitu bakteri yang pada pengecatan gram tetap mengikat warna cat pertama (gram A) karena tahan terhadap alkohol dan tidak mengikat warna cat yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri berwarna ungu. Bakteri gram negatif yaitu bakteri yang pada pengecatan gram warna cat yang pertama (gram A) dilunturkan karena tidak tahan terhadap alkohol dan mengikat warna yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri berwarna merah (Pelczar dan Chan, 1986). Perbedaan relatif antara bakteri gram positif dan gram negatif dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Perbedaan relatif antara Gram Positif dan Gram Negatif

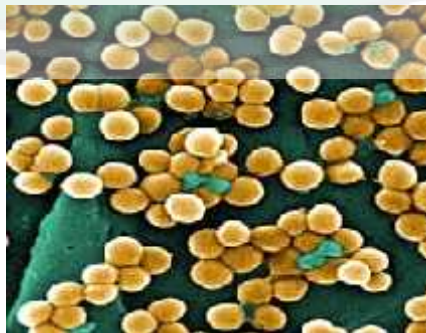
Sifat	Perbedaan Relatif	
	Bakteri Gram Positif	Bakteri Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tipis (10 – 15) dan berlapis tiga (multi)	Tebal (15 – 80 nm) dan berlapis tunggal (mono)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1 – 4 %)	Kandungan lipid tinggi (11 – 22 %)
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih sensitif	Lebih tahan
Penghambatan oleh pewarna basa. Contoh violet, kristal	Lebih dihambat	Kurang dihambat
Kebutuhan nutrisi	Kebanyakan spesies Relatif kompleks	Kebanyakan spesies Relatif sederhana
Ketahanan terhadap perlakuan fisik	Lebih tahan	Kurang tahan

Sumber : Pelczar dan Chan, 1986.

### 2.4.1.1. Gram Positif

Salah satu contoh bakteri gram positif adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *S. aureus* berbentuk bulat, tidak bergerak, tidak mampu membentuk spora, bersifat fakultatif anaerob, merupakan flora normal pada kulit dan saluran pernapasan bagian atas (Entjang, 2003). *S. aureus* memiliki diameter 0,1 – 1,5 mikrometer. *S. aureus* susunan selnya ada yang tunggal atau berpasangan dan secara khas membelah diri lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur (Pelczar dan Chan, 1986). Bentuk bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.5. Sistem klasifikasinya sebagai berikut :

Divisi	: Prothopyta
Subdivisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961).



Gambar 2.5 *Staphylococcus aureus* (Hira, 2014).

Dinding sel bakteri gram positif tersusun atas satu lapisan peptidoglikan dan membran luar. Pada beberapa bakteri terdapat asam teichoik (Irianto, 2006). *S. aureus* tumbuh pada suhu 37 °C dan memiliki pigmen putih sampai kuning tua (Salle, 1961). Bakteri ini tumbuh di media yang padat seperti agar-agar nutrisi, sebagai koloni yang bulat berwarna keemasan atau putih mengkilap (Gibson dan Roberfroid, 1995 dalam Miftahurrahmah, 2012).

*S. aureus* dapat menyebabkan penyakit seperti: infeksi pada folikel rambut, bisul, infeksi pada luka, dan abses. Selain itu bakteri ini dapat menyebabkan penyakit seperti meningitis dan pneumonia (radang paru-paru). Pencegahan penyakit dilakukan dengan meningkatkan daya tahan tubuh (Entjang, 2003).

#### 2.4.1.2. Gram Negatif

Salah satu contoh bakteri gram negatif adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat fakultatif aerob (Entjang, 2003). Sistem klasifikasi *E. coli* :

Divisi	: Protophyta
Subdivisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Salle, 1961).



Gambar 2.6 *Escherichia coli* (Firdausi, 2011).

Dinding sel bakteri gram negatif tersusun atas tiga lapisan yaitu lapisan dalam (peptidoglikan), lapisan bagian luar terdiri dari dua lapisan (lipopolisakarida dan lipoprotein) (Irianto, 2006). *E. coli* merupakan kuman berbentuk batang pendek (koko basil) gram negatif, ukuran  $0,4 - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$ , sebagian gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul (Gibson dan Roberfroid, 1995 dalam Miftahurrahmah, 2012). Bentuk bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 2.6.

Tempat yang paling sering terkena infeksi *Escherichia coli* adalah saluran kemih, saluran empedu, dan tempat-tempat lain di rongga perut. Bakteri ini juga menghasilkan enterotoksin penyebab diare. *Escherichia coli* memproduksi enterotoksin yang tahan panas dapat menyebabkan diare yang ringan, sedangkan enterotoksin yang tidak tahan panas dapat menyebabkan sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus, menghambat reabsorpsi natrium (Jawetz, dkk., 2005). Selain itu bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia serta merupakan penyebab utama meningitis pada bayi yang baru lahir (Entjang, 2003).

### 2.4.2. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri

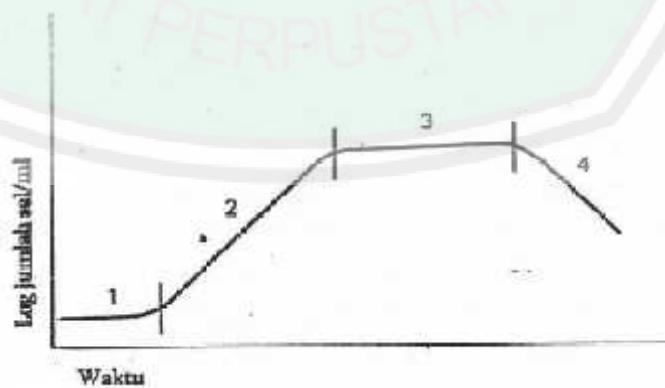
Secara umum fase pertumbuhan bakteri terbagi menjadi lima fase, yaitu fase adaptasi (lag), fase logaritmik, fase stasioner dan fase kematian (Suriawiria, 2005 dalam Permanasari, 2008). Kurva pertumbuhan bakteri ditunjukkan pada Gambar 2.7. Bakteri yang dikembangbiakkan ke dalam suatu medium yang sesuai dan pada keadaan yang optimum bagi pertumbuhannya, maka terjadi kenaikan jumlah sel yang amat tinggi dalam waktu yang relatif pendek (Pelczar dan Chan, 1986).

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat menggunakan Nutrient Agar (NA) atau media padat dan Nutrient Broth (NB) atau media cair. Komposisi media NA dan NB dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Komposisi media NA dan NB

Bahan NA dan NB	Ukuran (gram)
<i>Beef Extrac</i>	3
Agar	15
Peptone	5

Sumber: Safitri dan Novel (2010).



Gambar 2.7 Grafik pertumbuhan bakteri (Nadia, 2010).



### 2.4.3. Penentuan Jumlah Bakteri

Analisis kuantitatif mikrobiologi sangat penting dilakukan untuk mengetahui berapa jumlah bakteri yang dihambat pertumbuhannya karena terkait dengan seberapa besar ekstrak mempunyai daya penghambatan terhadap bakteri uji. Perhitungan jumlah bakteri dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satu metode yang sering digunakan adalah *Standart Plate Count* (SPC) dan analisis turbiditas (Cahyadi, 2009).

#### a. *Standart Plate Count* (SPC)

*Standart Plate Count* (SPC) merupakan metode perhitungan cawan secara kuantitatif untuk mengetahui adanya mikroorganisme hidup dalam suatu sampel. Perhitungan cawan didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel mikroorganisme hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah ditumbuhkan dalam media pertumbuhan dan lingkungan yang sesuai. Setelah diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan dari jumlah mikroorganisme dalam suspensi tersebut. Koloni yang tumbuh tidak selalu berasal dari satu sel mikroorganisme, karena beberapa mikroorganisme tertentu cenderung membentuk kelompok atau barantai.

Berdasarkan hal tersebut digunakan istilah *Coloni Forming Unit* (CFU) (Cahyadi, 2009). Syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut: satu koloni dihitung 1 koloni, dua koloni yang bertumpukan dihitung 1 koloni, beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni, dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni, koloni yang terlalu besar

(lebih besar dari setengah luas cawan) tidak dihitung, dan koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung 1 koloni (Maunatin, 2013).

Syarat perhitungan jumlah koloni dengan *Standart Plate Count* (SPC) memiliki syarat khusus berdasarkan statistik untuk memperkecil kesalahan dalam perhitungan. Syarat-syarat sebagai berikut (Maunatin, 2013):

1. Pilih cawan yang ditumbuhi koloni dengan jumlah 30 – 300 koloni. Jika  $> 300$  maka TBUD (Terlalu Banyak Untuk Dihitung)
2. Bila diperoleh perhitungan  $< 30$  koloni dari semua pengenceran, maka yang dilaporkan adalah pengenceran terendah
3. Bila diperoleh perhitungan  $> 300$  koloni dari semua pengenceran maka yang dilaporkan adalah pengenceran tertinggi
4. Bila ada 2 cawan masing-masing dari pengenceran rendah dan tinggi yang berurutan dengan jumlah koloni 30 – 300 maka:
  - a. Jika jumlah hasil bagi dari koloni pengenceran tertinggi dan terendah  $\leq 2$ , maka jumlah yang dilaporkan adalah nilai rata-rata
  - b. Jika hasil bagi dari jumlah koloni pengenceran tertinggi dan terendah  $> 2$ , maka jumlah yang dilaporkan adalah pengenceran terendah
5. Apabila setiap pengenceran dilakukan dengan cara menggunakan 2 cawan petri (duplo) maka jumlah angka yang digunakan adalah rata-rata dari kedua nilai masing-masing setelah dilakukan perhitungan.

#### 2.4.4. Antibakteri

Senyawa yang khusus untuk menghambat pertumbuhan atau aktivitas bakteri disebut senyawa antibakteri. Antibakteri dapat berupa senyawa kimia sintetik atau produk alami. Antibakteri sintetik dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya yang dibuat secara besar-besaran, sedangkan yang alami didapatkan langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan proses pengekstrakan. Senyawa antibakteri yang bersifat membunuh bakteri disebut bakterisidal, sedangkan senyawa bakteri yang bersifat menghambat bakteri disebut bakteristatik (Brock dan Madigan, 1991). Kriteria zat ideal yang digunakan sebagai zat antibakteri adalah aktivitasnya yang luas, tidak bersifat racun, ekonomis, sebaiknya bersifat membunuh daripada hanya menghambat pertumbuhan mikroba (Pelczar dan Chan, 1986).

Beberapa jenis antibakteri diantaranya penisilin yang berkhasiat untuk membunuh bakteri *S. aureus* (Entjang, 2003). Streptomisin dapat menghambat pertumbuhan patogen-patogen gram negatif. Streptomisin melancarkan efek antimikrobiaalnya dengan cara bergabung serta menyebabkan distorsi pada unit ribosom dengan demikian akan mengganggu sintesis protein (Pelczard dan Chan, 1988). Khamidah (2013) melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak *Chlorella sp.* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, digunakan kontrol positif streptomisisin untuk *E. coli* dan penisilin untuk *S. aureus*.

Beberapa kekuatan senyawa antibakteri ialah sebagai berikut: bila memiliki daerah hambatan  $> 20$  mm berarti memiliki kekuatan antibakteri sangat kuat; bila daerah hambatan yang dimilikinya berkisar antara  $10 - 20$  mm berarti kuat; bila daerah hambatan  $5 - 10$  mm berarti sedang; bila daerah hambatannya  $< 5$  mm maka dikatakan lemah (Davis dan Stout, 1971 dalam Yudha, 2008).

#### **2.4.5. Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri**

Mekanisme kerja senyawa antibakteri dapat terjadi melalui penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan sintesis protein, penghambatan sintesis asam nukleat dan merusak struktur membran sel bakteri (Volk dan Wheeler, 1993).

##### **a. Penghambatan sintesis dinding sel**

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk (Pelczar dan Chan, 1986). Beberapa senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis dinding sel dengan cara menghambat terjadinya reaksi peptidasi pada proses sintesis peptidoglikan sehingga dapat melemahkan dinding sel yang dapat membuat terjadi lisis.

##### **b. Penghambatan sintesis protein**

Kehidupan sel bakteri tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan ilmiah (Pelczar dan Chan, 1986). Proses penghambatan pertumbuhan bakteri melalui penghambatan sintesis protein dapat terjadi dengan cara menghambat terjadinya proses peptidiltransferase yang dapat

mengganggu proses pengikatan asam amino baru pada rantai peptida yang sedang terbentuk.

c. Penghambatan sintesis asam nukleat

Pada umumnya, antibakteri dapat menghambat sintesis asam nukleat dengan cara berinteraksi dengan benang heliks ganda DNA dengan cara mencegah replikasi atau transkripsi berikutnya dan berkombinasi dengan polimerase yang terlibat dalam biosintesis DNA atau RNA. Pelczar dan Chan (1986) DNA dan RNA memiliki peran penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri.

d. Perusakan struktur membran sel

Beberapa senyawa antibakteri dapat mempengaruhi sifat semipermeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kerusakan struktur membran yang dapat menghambat atau merusak kemampuan membran sel sebagai penghalang osmosis dan juga mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang dibutuhkan di dalam membran sel.

Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1986).

Berdasarkan hasil penelitian Khamidah (2013) ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* mengandung golongan senyawa steroid dan tanin hasil dari uji fitokimia. Menurut Morin dan Gorman (1995) senyawa steroid memiliki struktur lipofilik yaitu senyawa yang larut dalam lemak. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel bakteri rapuh dan lisis. Akibat lisis dari membran sel, senyawa yang terdapat dalam sitoplasma (seperti: inti sel, mesosom, protein dan lain-lain) akan keluar sehingga mengakibatkan kematian bakteri.

Menurut Nuria, dkk. (2009) mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat kerja enzim *reverse* transkriptase dan DNA sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Mekanisme tanin sebagai antibakteri menurut Naim (2004) berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktifkan adhesin sel (molekul yang menempel pada sel inang) bakteri yang terdapat pada permukaan sel. Tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel. Hal ini akan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis, sehingga sel bakteri akan mati.

Gilman, dkk. (1991) pada proses perusakan membran sel, ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya termasuk tanin akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk dari

membran sel, sehingga membran akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan dalam pertumbuhan bahkan kematian.

#### 2.4.6. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri merupakan teknik untuk mengukur besarnya potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Dart, 1996 dalam Ayu, 2004). Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri bervariasi. Bakteri gram positif biasanya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif (Brock dan Madigan, 1991). Kontrol positif untuk bakteri gram positif menggunakan penisilin 25 mg/mL, sedangkan untuk bakteri gram negatif menggunakan streptomisin 6,25 mg/mL (Soetan, dkk., 2006).

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri (Jawetz, dkk., 2005).

##### a. Metode dilusi

Metode ini menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir antibakteri dilarutkan dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antibakteri yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz, dkk., 2005).

### b. Metode difusi

Metode yang sering digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram. Kertas cakram direndam dalam senyawa antibakteri tertentu, kemudian ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram yang dipergunakan mengukur kekuatan hambat senyawa antibakteri terhadap organisme uji (Jawetz, dkk., 2005).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat dan harus dikontrol adalah (Greenwood, 1995 dalam Pratama, 2005):

- a. Konsentrasi bakteri pada permukaan medium. Semakin tinggi konsentrasi bakteri maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin kecil
- b. Kadalam medium pada cawan petri. Semakin tebal medium dalam cawan petri maka zona hambat akan semakin kecil
- c. Nilai pH dari medium. Beberapa antibiotik bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa kondisi basa.

### 2.5. Kandungan Senyawa Aktif *Chlorella sp.*

Komponen aktif mikroalga antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida (El-Baky, dkk., 2008 dalam Hasanah, 2011). Menurut Borowitzka (1995) Senyawa antibakteri yang ditemukan termasuk asam lemak, asam akrilat, fenolik, bromofenol, terpenoid, karbohidrat, dan peptida. Khamidah (2013)

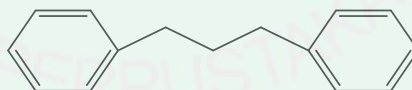


melaporkan hasil skrining fitokimia bahwa ekstrak metanol dari *Chlorella sp.* mengandung golongan senyawa steroid dan tannin.

## 2.6. Identifikasi Senyawa Aktif Mikroalga *Chlorella sp.* dengan Uji Fitokimia

### 2.6.1. Flavonoid

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang tersebar luas di alam (Kristanti, dkk., 2008). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa  $C_6-C_3-C_6$  yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus  $C_6$  (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Kerangka dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.8. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai  $C_3$ , sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995).



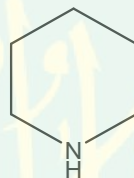
Gambar 2.8 Kerangka dasar flavonoid (Robinson, 1995).

### 2.6.2. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid

mengandung paling sedikit 1 atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Kristanti, dkk., 2008). Struktur inti alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.9.

Alkaloid dapat berfungsi sebagai penyimpan nitrogen, dalam pengatur tumbuh seperti merangsang perkecambahan, karena memiliki sifat basa maka dapat mempertahankan keseimbangan basa mineral dalam mempertahankan keseimbangan ion dalam tumbuhan (Robinson, 1995).

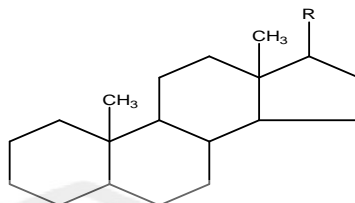


Gambar 2.9 Struktur inti alkaloid (Robinson, 1995).

### 2.6.3. Steroid

Steroid merupakan salah satu senyawa lipid yang dianggap sebagai derivat hidrosiklopentanofenantrena, yang terdiri atas 3 cincin sikloheksana terpadu seperti bentuk fenantrena (cincin A, B, dan C) dan sebuah cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (cincin D) (Poedjiadi, 1994). Struktur inti senyawa steroid dapat dilihat pada Gambar 2.10.

Steroid yang memiliki gugus hidroksil disebut dengan sterol. Selain dalam bentuk bebasnya, sterol juga sering dijumpai sebagai glikosida atau sebagai ester dengan asam lemak. Glikosida sterol sering disebut sterolin (Kristanti, dkk., 2008).



Gambar 2.10 Struktur inti senyawa steroid (Poedjiadi, 1994).

#### 2.6.4. Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidroksi karbon  $C_{30}$  asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit (Harborne, 1996). Senyawa triterpenoid dalam jaringan tumbuhan dapat dijumpai dalam bentuk bebasnya, tetapi juga banyak dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti, dkk., 2008). Struktur senyawa triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 2.11.

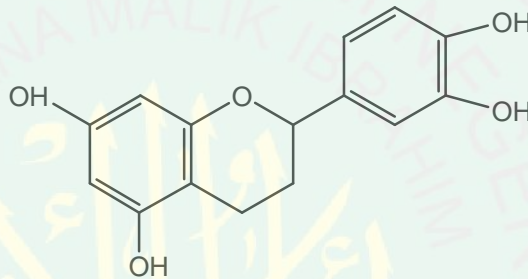


Gambar 2.11 Senyawa triterpenoid (Robinson, 1995).

#### 2.6.5. Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekol dan tanin terhidrolisis atau tanin galat. Sebagian besar tumbuhan

yang banyak mengandung tanin dihindari hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Salah satu fungsi tanin dalam tumbuhan adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harborne, 1987). Tanin dalam berbagai jenis tanaman memiliki struktur kimia dan reaksi yang berbeda-beda, tetapi memiliki sifat yang sama yaitu dapat mengendapkan gelatin dan protein (Shahidi dan Naczki, 1995). Struktur senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Struktur inti tanin (Robinson, 1995).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember 2013 – April 2014 di Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia dan Laboratorium Ekologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah erlenmeyer 1000 mL, lampu TL 36 Watt, timer, kuvet, spektronik 20, hot plate, sentrifuse, neraca analitik, seperangkat alat gelas, corong Buchner, corong pisah, *rotary evaporator vacumm*, *laminar air flow*, desikator, pengaduk, gelas arloji, spatula, cawan petri, tabung reaksi, *shaker*, kertas whatman no. 1, jarum ose, inkubator, aluminium foil, tissue, kapas, pinset, autoklaf, bunsen, pipet mikro, dan penggaris.

##### 3.2.2. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolat mikroalga *Chlorella sp.* yang diperoleh dari Laboratorium Ekologi. Bahan yang digunakan untuk kultivasi *Chlorella sp.* adalah tauge kacang hijau dan akuades. Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah methanol *p.a.*, etil asetat *p.a.*, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana *p.a.* Bahan yang digunakan untuk hidrolisis adalah HCl 2 N dan natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ).

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri diantaranya adalah akuades, biakan murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, spirtus, media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), penisilin dan streptomisin, sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk identifikasi golongan senyawa aktif diantaranya adalah reagen Mayer, reagen Dragendorff, serbuk Mg, metanol 50 %, HCl 2 %, kloroform, HCl pekat, asam asetat anhidrat, FeCl<sub>3</sub>, NaCl, gelatin, dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.

### 3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Uji taksonomi dilakukan untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Chlorella sp.* Sampel yang diambil adalah 10 mL isolat mikroalga *Chlorella sp.* kemudian dikultivasi dalam 60 mL Medium Ekstrak Tauge 4 % (Prihantini, dkk., 2005). Pemanenan dilakukan pada fase stasioner dihari ke-10. Pemanenan dilakukan dengan cara disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan bagian biomassa (intraseluler) dengan filtrat (ekstraseluler) dan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah bagian biomasanya.

Biomassa (intraseluler) *Chlorella sp.* dikeringanginkan dengan bantuan kipas angin selama  $\pm 2$  hari. Selanjutnya dilakukan analisis kadar air terhadap biomassa *Chlorella sp.* sebelum dan sesudah dikeringkan. Biomassa *Chlorella sp.* yang telah dikeringkan kemudian diekstraksi maserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:5 (b/v) selama  $\pm 24$  jam. Proses ekstraksi maserasi dilakukan dengan pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm

selama  $\pm 5$  jam pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan corong Buchner sehingga terpisah antara filtrat dengan residu. Bagian residu selanjutnya dimaserasi kembali hingga 3 kali ekstraksi. Kemudian filtrat yang diperoleh dari 3 kali proses maserasi tersebut dikumpulkan menjadi satu dan selanjutnya dipekatkan (dihilangkan pelarutnya) dengan menggunakan *rotary evaporator vacumm*. Kemudian ditimbang hasil ekstrak sehingga diperoleh ekstrak kasar dari biomassa *Chlorella sp.*

Ekstrak pekat metanol sebanyak 25 gram dihidrolisis dengan 50 ml HCl 2 N dan distirrer selama 1 jam dengan *hot plate stirrer*. Selanjutnya ditambahkan natrium bikarbonat hingga pH-nya netral dan dipartisi dengan pelarut n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat. Kemudian ekstrak hasil partisi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacumm* dan ekstrak pekat tersebut dikeringkan dengan cara dialiri gas  $N_2$  sehingga diperoleh ekstrak kering.

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian tahap pertama adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor yaitu: Faktor I pengaruh konsentrasi ekstrak *Chlorella sp.* yang terdiri dari:

K1 = Konsentrasi ekstrak *Chlorella sp.* 0,5 %

K2 = Konsentrasi ekstrak *Chlorella sp.* 1 %

K3 = Konsentrasi ekstrak *Chlorella sp.* 1,5 %

K4 = Konsentrasi ekstrak *Chlorella sp.* 2 %

K5 = Konsentrasi ekstrak *Chlorella sp.* 2,5 %

Faktor II pengaruh jenis fraksi yang terdiri dari:

L1 = Fraksi metanol

L2 = Fraksi n-heksana

L3 = Fraksi petroleum eter

L4 = Fraksi kloroform

L5 = Fraksi etil asetat

Tabel 3.1 Rancangan penelitian

L \ K	K	K1	K2	K3	K4	K5
L1		K1L1	K2L1	K3L1	K4L1	K5L1
L2		K1L2	K2L2	K3L2	K4L2	K5L2
L3		K1L3	K2L3	K3L3	K4L3	K5L3
L4		K1L4	K2L4	K3L4	K4L4	K5L4
L5		K1L5	K2L5	K3L5	K4L5	K5L5

Dari kombinasi tersebut, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali sehingga terdapat 75 kombinasi perlakuan. Kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Aktivitas terbaik dapat dilihat dari zona hambat yang terbesar. Kontrol positif yang digunakan adalah streptomisin untuk bakteri *E. coli* dan penisilin untuk bakteri *S. aureus*, sedangkan kontrol negatifnya adalah pelarut (Hidayati, 2009). Kontrol media yaitu Medium Ekstrak Tauge juga diuji aktivitasnya terhadap kedua bakteri tersebut. Selanjutnya diidentifikasi golongan senyawa dalam fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi secara kualitatif dengan uji reagen.



### 3.4. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

Tahap I : Uji taksonomi

Tahap II : Kultivasi mikroalga *Chlorella sp.*

1. Sterilisasi alat;
2. Pembuatan Medium Ekstrak Tauge (MET);
3. Kultivasi mikroalga *Chlorella sp.* dalam Medium Ekstrak Tauge;
4. Pemanenan mikroalga *Chlorella sp.*.

Tahap III : Preparasi sampel.

Tahap IV : Analisis kadar air mikroalga *Chlorella sp.*

Tahap V : Ekstraksi mikroalga *Chlorella sp.* menggunakan pelarut metanol.

Tahap VI : Hidrolisis dan partisi ekstrak pekat metanol dengan empat macam pelarut yaitu n-heksana, petroleum eter, kloroform dan etil asetat.

Tahap VII : Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar mikroalga *Chlorella sp.*

1. Sterilisasi alat;
2. Pembuatan media;
3. Peremajaan biakan murni bakteri;
4. Pembuatan suspensi bakteri;
5. Uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram;

Tahap VIII : Identifikasi golongan senyawa aktif dalam fraksi yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi secara kualitatif dengan uji fitokimia

### **3.5. Cara Kerja**

#### **3.5.1. Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.***

##### **3.5.1.1. Uji Taksonomi**

Uji taksonomi mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan di Laboratorium Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

##### **3.5.1.2. Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang akan disterilkan ditutup dengan aluminium foil atau kapas. Selanjutnya dimasukkan ke dalam autoklaf dan diatur pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*). Sterilisasi dilakukan untuk alat selama 15 menit (Hidayati, 2009).

##### **3.5.1.3. Pembuatan Medium Ekstrak Tauge**

Sebanyak 100 gram tauge direbus dalam 500 mL akuades yang mendidih selama 1 jam. Dipisahkan tauge dengan filtratnya. Diambil ekstrak tauge (filtrat) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Dilarutkan ekstrak tauge ke dalam akuades hingga diperoleh ekstrak tauge dengan konsentrasi 4 % (pH = 7) (Prihantini, dkk., 2005).

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

Sebanyak 10 mL kultur *Chlorella sp.* diinokulasikan ke dalam 60 mL medium ekstrak tauge. Labu kultur diletakkan ke dalam rak kultur dengan pencahayaan 2 buah lampu tungsten (TL) 36 Watt (intensitas cahaya 1000 – 4000 lux) dan fotoperiodisitas 14 jam terang dan 10 jam gelap (Prihantini, dkk., 2005).

### 3.5.1.5. Pemanenan Mikroalga *Chlorella sp.*

Mikroalga *Chlorella sp.* hasil kultivasi dipanen dengan cara disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga terpisah antara biomassa dengan filtrat. Bagian biomassa (intraseluler) *Chlorella sp.* diambil untuk selanjutnya dianalisis kadar air dan dimaserasi.

### 3.5.2. Preparasi Sampel

Biomassa *Chlorella sp.* diambil untuk dikeringkan dengan bantuan kipas angin selama  $\pm 2$  hari dan dilakukan analisis kadar air. Kemudian ditimbang biomassa *Chlorella sp.* kering.

### 3.5.3. Analisis Kadar Air Mikroalga *Chlorella sp.*

Cawan porselen dipanaskan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama  $\pm 15$  menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Biomassa mikroalga *Chlorella sp.* yang sudah dikeringkan diambil 5 gram dan dipanaskan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama  $\pm 15$  menit untuk menghilangkan kadar air dalam sampel mikroalga *Chlorella sp.*, kemudian sampel disimpan dalam desikator selama  $\pm 10$  menit dan ditimbang.

Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven  $\pm 15$  menit, disimpan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dalam mikroalga *Chlorella sp.* dihitung menggunakan persamaan (AOAC, 1984):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan : a = Berat konstan cawan kosong

b = Berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = Berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

berikut perhitungan kadar air terkoreksi menggunakan persamaan :

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \dots\dots\dots (3.2)$$

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi.

#### 3.5.4. Ekstraksi Mikroalga *Chlorella sp.* dengan Maserasi

Biomassa *Chlorella sp.* kering yang telah diperoleh dari fase satsioner pemanenan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml dan ditambahkan pelarut methanol dengan perbandingan 1:5 (b/v) (50 gr : 250 mL). Biomassa *Chlorella sp.* kering diambil 50 gram kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol 250 mL selama 24 jam. Selama 24 jam tersebut, sampel di *shaker* selama  $\pm 5$  jam dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya disaring filtratnya. Residu yang diperoleh diekstraksi kembali dengan pelarut metanol hingga tiga kali pengulangan dan filtrat yang diperoleh digabungkan menjadi satu. Ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator vacumm* hingga diperoleh ekstrak pekat metanol dan dihitung rendemennya dengan persamaan :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kasar yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.3)$$

Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan dialiri gas  $N_2$  sehingga diperoleh ekstrak kering.

### 3.5.5. Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Metanol

Ekstrak pekat metanol sebanyak 25 gram dihidrolisis dengan 50 ml HCl 2 N dan distirrer selama 1 jam dengan *hot plate stirrer*. Selanjutnya ditambahkan natrium bikarbonat hingga pH-nya netral. Kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksana. Fasa organik (n-heksana) dipisahkan dari fasa airnya. Fasa air dipartisi dengan petroleum eter. Kemudian fasa organik (petroleum eter) dipisahkan dari fasa air. Fasa air dipartisi dengan kloroform. Kemudian fasa organik (kloroform) dipisahkan dari fasa air. Fasa air yang tersisa dipartisi dengan pelarut etil asetat.

Masing-masing fraksi pelarut (hasil partisi) dipekatkan dengan *rotary evaporator vacumm* hingga diperoleh ekstrak pekat n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat. Dihitung rendemennya dengan persamaan :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.4)$$

Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan dialiri gas N<sub>2</sub> sehingga diperoleh ekstrak kering.

### 3.5.6. Uji Aktivitas Antibakteri

#### 3.5.6.1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara semua alat dibungkus menggunakan kertas dan disterilkan dalam autoklaf pada 121 °C dengan tekanan 15 psi (*per square inci*) selama 15 menit (Muhibah, 2013).

### 3.5.6.2. Pembuatan Media

Pembuatan media NB (*Nutrient Broth*) dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,9 gram NB kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 100 ml dalam erlenmeyer kemudian ditutup dengan aluminium foil. Suspensi dipanaskan hingga mendidih lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditutup dengan kapas. Proses ini dilakukan secara aseptik, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit (Muhibah, 2013).

Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 2,3 gram nutrisi agar dan dilarutkan dalam 100 ml akuades dalam *beaker glass* kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditutup aluminium foil. Suspensi dipanaskan hingga mendidih lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi. Proses ini dilakukan secara aseptik dengan cara bagian ujung alat dipanaskan serta ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Media NA dalam tabung reaksi disterilkan dalam autoklaf dan diatur pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit, kemudian tabung diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan membeku selama 1 jam pada suhu ruang (Muhibah, 2013).

### 3.5.6.3. Peremajaan Biakan Murni Bakteri

Biakan murni *E. coli* dan *S. aureus* diremajakan pada media NA dengan cara diambil 1 jarum ose, digoreskan secara aseptik pada media NA miring dengan mendekatkan pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Ditutup kembali tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C di dalam inkubator.

#### 3.5.6.4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose bakteri hasil peremajaan biakan murni *E. coli* dan *S. aureus* dibiakkan dalam 10 mL media cair (NB) steril dan dihomogenkan. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif. Kemudian dilakukan OD (*Optic Density*) dengan panjang gelombang 600 nm (Muhibah, 2013).

Konsentrasi suspensi bakteri diketahui dengan menggunakan metode *total plate count* (TPC). Larutan biakan aktif diambil 1 mL dengan pipet, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades untuk memperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . Demikian seterusnya sampai diperoleh pengenceran  $10^{-10}$ . Kemudian dari pengenceran  $10^{-5}$  sampai  $10^{-10}$  diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan dalam cawan petri. Kemudian ditambahkan 10 mL media NA, lalu cawan petri digoyang-goyang supaya NA merata, dibiarkan beberapa menit sampai membeku. Lalu cawan petri disimpan dalam posisi terbalik di dalam inkubator pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Muhibah, 2013).

Cara perhitungan dipilih cawan petri yang mempunyai koloni antara 30 – 300. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut  $< 2$ , maka nilai yang diambil adalah rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhatikan pengencerannya. Jika hasil perbandingannya  $> 2$ , maka diambil hasil pengenceran yang terendah atau terkecil.

$$\text{Perhitungan jumlah bakteri} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{fp}} \text{ cfu} \dots\dots\dots (3.5)$$

#### 3.5.6.5. Uji Aktivitas Antibakteri

Media NA 10 mL yang telah dipanaskan hingga mencair, didinginkan sampai suhu  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dan dituang dalam cawan petri steril. Ditambahkan 0,1 mL

larutan biakan aktif bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dihomogenkan. Dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram (diameter 5 mm) direndam dalam masing-masing ekstrak *Chlorella sp.* dan kontrol. 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 °C selama 24 jam dalam inkubator. Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan penggaris untuk menentukan aktivitas antibakteri (Volk dan Wheeler, 1993). Uji antibakteri dilakukan tiga kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi. Luas zona hambat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \text{diameter keseluruhan} - \text{diameter cakram} \dots\dots\dots (3.6)$$

### **3.5.7. Identifikasi Senyawa Aktif dalam Mikroalga *Chlorella sp.***

#### **3.5.7.1. Uji Triterpenoid**

Ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 1 – 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan ada senyawa triterpenoid dalam sampel (Indrayani, dkk., 2006).

#### **3.5.7.2. Uji Alkaloid**

Ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 0,5 mL reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2 – 3 tetes



reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid (Indrayani, dkk., 2006).

### 3.5.7.3. Uji Flavonoid

Ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1 – 2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah serbuk Mg dan 0,5 mL HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid (Indrayani, dkk., 2006).

### 3.5.7.4. Uji Steroid

Ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 1 – 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung tersebut. Terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Indrayani, dkk., 2006).

### 3.5.7.5. Uji Tanin

#### 3.5.7.5.1. Uji dengan FeCl<sub>3</sub>

Ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 – 3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka bahan tersebut mengandung tanin.

### 3.5.7.5.2. Uji dengan Larutan Gelatin

Ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin.

### 3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai diameter zona hambat hasil uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan uji *anova* dua arah (Yitnosumarto, 1993). Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan pelarut yang diberikan terhadap aktivitas antibakteri, *E. coli* dan *S. aureus* apabila:

- a.  $F_{hitung} > F_{tabel}$  maka perlakuan variasi konsentrasi ekstrak terdapat pengaruh sehingga  $H_0$  ditolak berarti variasi konsentrasi berpengaruh pada aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* kemudian dilanjutkan dengan uji BNT.
- b.  $F_{hitung} < F_{tabel}$  maka variasi konsentrasi ekstrak tidak terdapat pengaruh sehingga  $H_0$  diterima.

Dimana:

- $H_0$  (Hipotesa awal) adalah variasi konsentrasi ekstrak tidak ada pengaruh pada aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.
- $H_1$  (Hipotesa alternatif) adalah variasi konsentrasi ekstrak terdapat pengaruh pada aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, diantaranya adalah (1) uji taksonomi mikroalga *Chlorella sp.*, (2) kultivasi mikroalga *Chlorella sp.*, (3) analisis kadar air mikroalga *Chlorella sp.*, (4) preparasi sampel, (5) ekstraksi mikroalga *Chlorella sp.* dengan metode maserasi, (6) hidrolisis dan partisi ekstrak mikroalga *Chlorella sp.*, (7) uji aktivitas antibakteri ekstrak mikroalga *Chlorella sp.*, (8) identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak mikroalga *Chlorella sp.*, dengan uji fitokimia.

#### 4.1. Uji Taksonomi Mikroalga *Chlorella sp.*

Uji taksonomi mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan untuk memastikan jenis mikroalga yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini, karena mikroalga jenis Chlorophyta memiliki spesies yang beragam. Berdasarkan hasil uji taksonomi, mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga jenis *Chlorella sp.* yang memiliki ciri-ciri yaitu selnya berbentuk bulat, berwarna hijau, hidup menyendiri atau berkelompok dan tidak memiliki flagella. Warna hijau pada mikroalga ini diduga disebabkan oleh adanya klorofil dalam jumlah yang besar. Menurut Bold dan Wynne (1985) sel *Chlorella sp.* berbentuk bulat dan elips. Sedangkan menurut Kumar dan Singh (1976) *Chlorella sp.* tidak memiliki flagella sehingga tidak dapat bergerak aktif. Bentuk sel *Chlorella sp.* hasil uji taksonomi dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Mikroalga *Chlorella sp.* hasil uji taksonomi (Khamidah, 2010)

## 4.2. Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.*

### 4.2.1. Pembuatan Medium Ekstrak Tauge (MET)

Medium Ekstrak Tauge yang diperoleh berupa air hasil rebusan tauge yang berwarna coklat kekuningan dan kental. Hal ini dikarenakan kandungan yang ada dalam tauge sudah terekstrak didalam air. Kandungan tauge yang sudah ada didalam air rebusan tauge digunakan untuk makanan bagi *Chlorella sp.* Selain itu, dengan adanya perebusan tauge, kandungan yang ada di dalam tauge seperti protein sudah terpecah menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga mudah dicerna oleh *Chlorella sp.* Medium Ekstrak Tauge yang digunakan untuk kultivasi *Chlorella sp.* adalah Medium Ekstrak Tauge konsentrasi 4 %, bentuknya berupa cairan berwarna bening dan lebih encer, hal ini karena sudah dilakukan penambahan akuades. Hasil pembuatan Medium Ekstrak Tauge dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Medium Ekstrak Tauge (MET)

#### 4.2.2. Kultivasi dan Pemanenan Mikroalga *Chlorella sp.*

Kultivasi mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan untuk menumbuhkan *Chlorella sp.* dalam Medium Ekstrak Tauge sehingga diperoleh biomasnya yang mengandung metabolit sekunder. Saat proses kultivasi, kultur *Chlorella sp.* mengalami perubahan warna, mulai dari warna kultur yang hijau kekuningan sampai hijau kehitaman. Semakin lama warna *Chlorella sp.* akan semakin bertambah hijau (pekat) dari hari ke-1 sampai hari ke-10. Perubahan warna kultur *Chlorella sp.* selama kultivasi dapat dilihat pada Gambar 4.3. Hal ini menunjukkan bahwa kepadatan sel *Chlorella sp.* juga mengalami perubahan, selain itu perubahan warna tersebut mengindikasikan peningkatan kadar klorofil yang merupakan pigmen utama yang terdapat pada *Chlorella sp.* Voleskey (1970) dalam Rostini (2007) mengatakan bahwa warna hijau pada *Chlorella sp.* ditimbulkan oleh pigmen yang terkandung di dalam sel *Chlorella sp.* Sel *Chlorella sp.* mengandung pigmen berupa xanthofil, karoten, serta klorofil a dan b dalam jumlah yang besar.

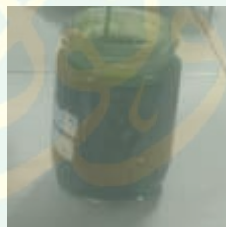


Gambar 4.3. Perubahan warna kultur *Chlorella sp.*

Pada hari ke-1 kultivasi, warna inokulum *Chlorella sp.* adalah kuning kehijauan, kemudian pada hari ke-10 kultivasi warna yang dihasilkan cenderung pekat (hijau pekat) dan menghasilkan endapan. Prihantini, dkk. (2007) menyatakan bahwa gradiasi warna hijau kultur selain menunjukkan peningkatan

jumlah sel, juga mengindikasikan kadar klorofil yang terkandung dalam sel. Kemudian, pada hari ke-10 *Chlorella sp.* dipanen.

Pemanenan biomassa *Chlorella sp.* dilakukan pada hari ke-10 kultivasi yang merupakan fase stasioner dari *Chlorella sp.* Endapan yang dihasilkan pada saat kultivasi, dikumpulkan menjadi satu. Selanjutnya, pemanenan dilakukan dengan cara endapan *Chlorella sp.* disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, sehingga terpisah antara biomassa dan filtrat (media kultur). Biomassa *Chlorella sp.* akan berkumpul di dasar tabung sentrifus. Hasil pemanenan biomassa *Chlorella sp.* berwarna hijau pekat yang masih mengandung air. Berat basah *Chlorella sp.* yang diperoleh yaitu sebesar 466,57 gram. Hasil pemanenan biomassa *Chlorella sp.* dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Biomassa mikroalga *Chlorella sp.*

Pemanenan biomassa *Chlorella sp.* dilakukan pada hari ke-10 (fase stasioner). Berdasarkan hasil penelitian Khamidah (2013) kurva pertumbuhan dari *Chlorella sp.* (Gambar 2.3) dalam Medium Ekstrak Tauge menunjukkan fase stasioner dimulai pada hari ke-8 sampai hari ke-11 yang ditandai dengan kelimpahan sel *Chlorella sp.* cenderung tidak bertambah. Selain itu pada hari ke-10 *Chlorella sp.* menghasilkan kelimpahan sel tertinggi sebesar  $4,88 \times 10^6$  sel/mL.

#### 4.3. Analisis Kadar Air Mikrolaga *Chlorella sp.*

Sebelum dilakukan analisis kadar air untuk *Chlorella sp.* terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel. Preparasi sampel dilakukan untuk mengeringkan biomassa *Chlorella sp.* dengan cara dikering anginkan menggunakan kipas angin. Proses pengeringan ini dilakukan untuk mengurangi kandungan air dalam sampel biomassa *Chlorella sp.* sehingga selanjutnya tidak akan mengganggu proses ekstraksi. Selain itu, pengeringan juga bertujuan untuk mencegah tumbuhnya jamur saat penyimpanan sampel sehingga komposisi kimia yang ada di dalam sampel tetap terjaga.

Pengeringan biomassa *Chlorella sp.* tidak digunakan oven maupun pengeringan langsung dengan sinar matahari karena dikhawatirkan pengovenan maupun panas dari sinar matahari dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam biomassa *Chlorella sp.* Menurut Robinson (1995) dalam Daniel (2010) beberapa metabolit sekunder mudah rusak pada suhu tinggi. Sampel biomassa *Chlorella sp.* yang sudah kering berbentuk serbuk halus. Hasil rendemen pengeringan biomassa *Chlorella sp.* adalah 2,79 %.

Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui kadar air yang terkandung dalam biomassa *Chlorella sp.* Penentuan kadar air ini dilakukan dengan proses pemanasan sampel menggunakan oven. Pemanasan dilakukan sampai berat sampel konstan. Puspita (2009) apabila kandungan air dalam suatu sampel kurang dari 10 %, maka kestabilan optimum akan tercapai dan pertumbuhan mikroba akan berkurang.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air terhadap sampel biomassa *Chlorella sp.* kering, diperoleh kadar air sebesar 7,05 %. Hasil penelitian Khamidah (2013) menyebutkan bahwa kadar air *Chlorella sp.* adalah sebesar 10,899 %. Perbedaan hasil ini dikarenakan waktu pengeringan yang berbeda. Semakin lama waktu pengeringan, kadar air dalam sampel akan semakin sedikit.

Semakin rendah kadar air suatu sampel maka komponen aktif yang ada di dalam sampel akan semakin mudah terekstrak oleh pelarut. Selain itu, kandungan air dalam sampel juga dapat mempengaruhi proses penyimpanan sampel. Sampel dengan kadar air rendah cenderung tidak mudah untuk ditumbuhi mikroorganisme saat penyimpanan. Kadar air dalam penelitian ini menunjukkan bahwa sampel sudah dapat dilakukan proses ekstraksi.

#### **4.4. Ekstraksi Mikroalga *Chlorella sp.* dengan Maserasi**

Ekstraksi pada mikroalga *Chlorella sp.* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol yang bersifat polar. Kontak antara sampel dengan pelarut saat proses maserasi dapat ditingkatkan dengan cara dishaker. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan kontak antara ekstrak dengan pelarut sehingga mempermudah masuknya pelarut ke dalam dinding sel. Perendaman ekstrak saat maserasi dilakukan selama 24 jam. Semakin lama waktu perendaman, maka kontak antara pelarut dengan ekstrak akan semakin besar sehingga senyawa-senyawa yang terekstrak akan lebih banyak.

Proses maserasi dilakukan menggunakan pelarut yang baru setiap kali pengulangan. Proses maserasi dihentikan apabila warna filtrat dari sampel *Chlorella sp.* sudah mengalami perubahan warna yaitu yang awalnya filtrat



berwarna hijau kehitaman menjadi lebih bening dan warna sampel sudah berubah warna menjadi hijau pucat. Hal ini diasumsikan bahwa senyawa aktif yang ada di dalam sampel *Chlorella sp.* sudah terekstrak dengan maksimal.

Semua filtrat yang didapatkan dipisahkan menggunakan corong *Buchner* dan dilapisi dengan kertas saring agar filtrat dan residunya dapat terpisah. Filtrat akan lolos melewati kertas saring dan endapan (sampel) akan tertahan diatas kertas saring. Kemudian filtrat yang dihasilkan selama proses maserasi dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vacumm* untuk menguapkan pelarutnya. Proses ini dihentikan sampai semua pelarut habis teruapkan, yang ditandai dengan tidak ada lagi pelarut yang menetes pada labu alas bulat, sehingga didapatkan ekstrak metanol pekat *Chlorella sp.*

Ekstrak pekat yang dihasilkan berwarna hijau kehitaman (hijau pekat). Hasil penelitian Sriwardani (2000) juga menunjukkan bahwa ekstrak *Chlorella sp.* yang diperoleh berupa ekstrak berwarna hijau tua dan pekat. Hal ini diduga karena kandungan klorofil yang dimiliki oleh *Chlorella sp.* Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang diperlukan dalam proses fotosintesis dan cenderung bersifat polar sehingga menyebabkan ekstrak yang diperoleh berwarna hijau.

Ekstrak pekat dialiri gas  $N_2$  untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut yang masih ada. Pemberian gas  $N_2$  ini dihentikan ketika berat ekstrak telah konstan. Hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil maserasi ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.*

Pelarut	Warna Ekstrak pekat	Rendemen Ekstrak (%)
Metanol	Hijau pekat	13,07

Hasil rendemen yang dihasilkan ekstrak metanol *Chlorella sp.* pada penelitian ini sebesar 13,07 %. Hasil penelitian Khamidah (2013) menyebutkan bahwa nilai rendemen ekstrak metanol *Chlorella sp.* sebesar 12,182 %. Perbedaan nilai rendemen ini dapat disebabkan karena perbedaan nilai kadar air yang terkandung dalam sampel *Chlorella sp.* Semakin banyak kandungan air pada sampel maka rendemen hasil ekstraksi akan semakin sedikit. Kandungan air yang tinggi akan mengganggu proses ekstraksi, karena proses ekstraksi digunakan pelarut yang bersifat polar (metanol) sedangkan air bersifat lebih polar dari metanol.

#### 4.5. Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Peekat Metanol

Hidrolisis ekstrak peekat metanol *Chlorella sp.* dilakukan dengan menambahkan HCl 2 N, kemudian diaduk untuk memaksimalkan proses hidrolisis. Setelah itu dinetralkan menggunakan larutan natrium bikarbonat hingga pH 7 (netral). Hasil hidrolisis berupa gumpalan padatan yang berwarna hijau. Hasil hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 4.5.



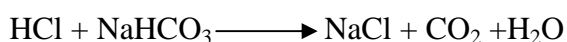
Gambar 4.5 Hasil hidrolisis

Tujuan dari penambahan HCl 2 N adalah sebagai katalis untuk mempercepat reaksi hidrolisis. Senyawa organik pada tumbuhan umumnya masih dalam bentuk ikatan glikosida yaitu senyawa yang terdiri atas senyawa gula

(glikon atau metabolit primer) dan senyawa bukan gula (aglikon atau metabolit sekunder). Senyawa gula pada umumnya bersifat polar dan senyawa bukan gula umumnya bersifat kurang polar.

Pemilihan asam klorida (HCl) sebagai katalis pada proses hidrolisis karena asam klorida bersifat asam kuat. Asam kuat akan terionisasi sempurna di dalam air, sehingga senyawa HCl akan lebih mudah melepaskan ion  $H^+$  yang dimiliki. Sedangkan, asam lemah relatif lebih sukar untuk melepaskan ion  $H^+$  (terionisasi sebagian). Semakin banyak ion  $H^+$  yang terionisasi di dalam air, maka semakin kuat peranan ion  $H^+$  dalam proses pemutusan ikatan glikosida. Selain itu, juga didasarkan bahwa garam yang dihasilkan setelah penetralan tidak mengganggu proses reaksi yaitu berupa garam natrium klorida (NaCl) yang larut dalam air. Reaksi pemutusan ikatan glikosida pada saat penambahan HCl dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Tujuan penambahan natrium bikarbonat adalah untuk menetralkan suasana larutan yang menjadi asam setelah penambahan HCl. Pada reaksi hidrolisis ini perlu adanya penetralan karena reaksi ini bersifat bolak-balik, sehingga jika tidak adanya pemberhentian proses reaksi (penetralan) akan terus berlanjut. Persamaan proses penetralan dengan natrium bikarbonat dapat dilihat pada Persamaan 4.1.



Persamaan 4.1 Reaksi antara HCl dengan natrium bikarbonat (Mardiyah, 2012)

Setelah tahapan hidrolisis selesai, selanjutnya ekstrak pekat metanol *Chlorella sp.* dipartisi (ekstraksi cair-cair) menggunakan variasi pelarut, untuk dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang telah terlepas ikatannya dari

metabolit primer (gugus gula). Variasi pelarut yang digunakan saat proses partisi adalah n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat. Berdasarkan nilai konstanta dielektrik susunan kepolaran dari keempat senyawa tersebut diantaranya etil asetat (polar) > kloroform (semi polar) > petroleum eter (non polar) > n-heksana (non polar). Semakin besar nilai konstanta dielektriknya maka pelarut tersebut akan semakin bersifat polar.



Gambar 4.6 Mekanisme reaksi hidrolisis

Senyawa metabolit sekunder dapat bersifat polar, semi polar dan non polar, sehingga untuk memaksimalkan pengestrakan senyawa metabolit sekunder partisi dilakukan dengan berbagai variasi pelarut. Masing-masing pelarut akan

melarutkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat kepolaran yang sama. Partisi senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan partisi bertingkat, dimulai dari pelarut non polar, semi polar, sampai polar. Secara berturut-turut partisi dimulai dari pelarut n-heksana-petroleum eter-kloroform-etil asetat.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada proses partisi dengan masing-masing pelarut dihasilkan dua lapisan yang berbeda yang tidak saling bercampur. Pertama partisi dengan pelarut n-heksana dihasilkan dua lapisan yang tidak saling bercampur (lapisan atas dan lapisan bawah). Lapisan atas merupakan fase organik dan lapisan bawah berupa fase air. Hal ini terjadi karena berat jenis air (1 g/mL) lebih besar dibandingkan dengan berat jenis pelarut n-heksana (0,660 g/mL), sehingga fase air berada di bawah, dan fase organik berada di atas. Lapisan atas berwarna hijau kehitaman sedangkan lapisan bawah berwarna hijau dan terdapat gumpalan-gumpalan sampel. Selanjutnya, partisi menggunakan pelarut petroleum eter juga dihasilkan dua lapisan yang tidak saling bercampur (lapisan atas dan lapisan bawah). Lapisan atas berupa fase organik dan lapisan bawah berupa fase air. Hal ini terjadi karena berat jenis air (1 g/mL) lebih besar dibandingkan dengan berat jenis petroleum eter (0,625 g/mL), sehingga fase air berada pada lapisan bawah dan fase organik berada pada lapisan atas. Lapisan atas berwarna hijau kehitaman dan lapisan bawah berwarna hijau dan terdapat gumpalan sampel.

Pengekstrakan menggunakan pelarut kloroform juga dihasilkan dua lapisan yang tidak saling bercampur (lapisan atas dan lapisan bawah). Lapisan

atas berupa fase air dan lapisan bawah berupa fase organik. Hal ini terjadi karena berat jenis air (1 g/mL) lebih kecil dibandingkan dengan berat jenis kloroform (1,483 g/mL). Lapisan atas berwarna hijau sedangkan lapisan bawah berwarna hijau pucat. Pengekstrakan yang terakhir menggunakan pelarut etil asetat, dihasilkan juga dua lapisan yang tidak saling bercampur (lapisan atas dan lapisan bawah). Lapisan atas berupa fase organik dan lapisan bawah berupa fase air. Hal ini terjadi karena berat jenis air (1 g/mL) lebih besar dibandingkan dengan berat jenis etil asetat (0,900 g/mL). Lapisan atas berwarna hijau pucat sedangkan lapisan bawah berwarna bening.

Hasil masing-masing fraksi pelarut n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat diuapkan pelarutnya dengan cara didiamkan di dalam lemari asam untuk mendapatkan ekstrak pekat. Hal ini dilakukan karena pelarut yang digunakan mudah menguap, sehingga untuk menghilangkan pelarut dari hasil ekstrak cukup dengan didiamkan dan pelarut akan menguap dengan sendirinya. Ekstrak pekat yang dihasilkan kemudian dialiri gas N<sub>2</sub> sampai dihasilkan berat konstan. Hasil rendemen masing-masing ekstrak ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil partisi dan rendemen untuk masing-masing pelarut

Pelarut	Warna ekstrak pekat	Rendemen (%)
Fasa air	Hijau pucat	11,68
Etil asetat	Hijau kehitaman	9,09
Kloroform	Hijau kehitaman	9,94
Petroleum eter	Hijau kehitaman	10,41
n-Heksana	Hijau kehitaman	44,85

Berdasarkan hasil penelitian, dapat dilihat bahwa nilai rendemen ekstrak *Chlorella sp.* secara berturut-turut fraksi n-heksana > fraksi petroleum eter >

fraksi kloroform > fraksi etil asetat. Semakin besar nilai rendemen yang didapatkan, maka semakin banyak senyawa yang terekstrak di dalamnya. Senyawa metabolit sekunder yang ada pada *Chlorella sp.* lebih banyak terekstrak pada pelarut n-heksana, hal ini ditunjukkan dengan hasil rendemen ekstrak n-heksana yang paling tinggi. Hal ini diduga karena senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam *Chlorella sp.* lebih banyak yang bersifat non polar dibandingkan dengan senyawa yang bersifat polar.

#### 4.6. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak metanol *Chlorella sp.* yang dipanen pada hari ke-10 (fase stasioner), dan hasil partisi dengan pelarut n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat. Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode difusi cakram digunakan dalam penelitian ini karena praktis, mudah dilakukan, dan cukup teliti.

Zona hambat yang terbentuk dari kertas cakram yang berisi ekstrak akan dibandingkan dengan zona hambat dari kertas cakram yang berisi kontrol positif maupun kontrol negatif. Kontrol positif berupa streptomisin untuk bakteri *E. coli* dan penisilin untuk bakteri *S. aureus*. Kontrol positif digunakan untuk membandingkan aktifitas antibakteri yang dihasilkan dari ekstrak *Chlorella sp.* dengan antibiotik sintetik yang sudah ada. Kontrol negatif yang digunakan berupa pelarut metanol, n-heksana, petroleum eter, kloroform, etil asetat dan Medium Ekstrak Tauge. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak dibandingkan dengan zona hambat dari kontrol negatif untuk memastikan bahwa zona hambat yang

terbentuk bukan dari pengaruh pelarut maupun Medium Ekstrak Tauge, melainkan murni dari senyawa aktif yang terkandung dalam masing-masing ekstrak.

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram ini dilakukan terhadap dua bakteri uji yaitu bakteri *E. coli* (gram negatif) dan bakteri *S. aureus* (gram positif). Digunakan kedua bakteri uji ini karena kedua bakteri ini memiliki perbedaan struktur dinding sel sehingga menyebabkan perbedaan kesensitifan bakteri terhadap senyawa antibakteri tertentu. Jumlah bakteri *E. coli* yang digunakan di dalam cawan untuk uji aktivitas antibakteri sebesar  $2,96 \times 10^8$  CFU, sedangkan bakteri *S. aureus* sebesar  $2,88 \times 10^8$  CFU.

Pengujian ini dilakukan pada variasi konsentrasi yaitu 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 % dan 2,5 %. Pengujian antibakteri menggunakan variasi konsentrasi ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian konsentrasi ekstrak yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri uji. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Berdasarkan Tabel 4.3 semua ekstrak dari *Chlorella sp.* tidak menghasilkan zona hambat untuk bakteri *E. coli* dari berbagai variasi konsentrasi yang diujikan. Tidak adanya zona hambat pada bakteri *E. coli* diduga disebabkan karena dinding sel dari bakteri *E. coli* terlalu tebal sehingga dibutuhkan senyawa antibakteri yang cukup kuat untuk menghambat atau membunuh bakteri ini. Dinding sel bakteri *E. coli* tersusun atas peptidoglikan, lipopolisakarida, dan lipoprotein, dengan tebalnya lapisan dinding sel yang dimiliki susah untuk suatu senyawa masuk ke dalam tubuh bakteri.



Tabel 4.3 Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*

Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)				
	Metanol	n-heksana	Petroleum Eter	Kloroform	Etil Asetat
0,5	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
1,5	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
2,5	0	0	0	0	0
Kontrol Pelarut	0	0	0	0	0
Kontrol Media	0				
Streptomisin (0,6 %)	13,5				

Keterangan : Kontrol negatif: Pelarut dan Medium Ekstrak Tauge  
Kontrol positif: Streptomisin

Selain itu, tidak adanya zona hambat yang dihasilkan untuk bakteri *E. coli* juga dapat disebabkan karena kecilnya konsentrasi ekstrak yang digunakan, sehingga dapat dikatakan aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan ekstrak hasil hidrolisis menggunakan variasi pelarut n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat *Chlorella sp.* terhadap bakteri *E.coli* tidak ada atau tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Besarnya zona hambat menentukan besarnya aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri uji.

Berdasarkan penelitian ini, ekstrak metanol *Chlorella sp.* yang dipanen pada fase stasioner tidak menghasilkan zona hambat untuk terhadap bakteri *E. coli*. Khamidah (2013) melakukan uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak metanol *Chlorella sp.* menggunakan variasi konsentrasi 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, dan 25 %. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak metanol *Chlorella sp.* tertinggi terhadap bakteri *E. coli* sebesar 16,5 mm, pada konsentrasi 20 %. Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan adalah 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2 % dan

2,5 %. Perbedaan penggunaan konsentrasi ini yang menyebabkan hasil zona hambat yang berbeda pula. Semakin besar konsentrasi yang diberikan kemungkinan akan semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan. Setyaningsih, dkk. (2005) hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *Chlorella sp.* terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri.

Kontrol positif untuk bakteri *E. coli* digunakan antibiotik streptomisin. Zona hambat yang dihasilkan oleh streptomisin sebesar 13,5 mm. Davis dan Stout, (1971) dalam Yudha, (2008) berdasarkan zona hambat yang dihasilkan oleh streptomisin, kekuatan antibakterinya termasuk kuat (10 – 20 mm). Menurut Pelczard dan Chan (1988) streptomisin dapat menghambat pertumbuhan patogen-patogen gram negatif. Streptomisin melancarkan efek antimikrobiahnya dengan cara menyebabkan distorsi pada unit ribosom dengan demikian akan mengganggu sintesis protein. Jika dibandingkan antara ekstrak *Chlorella sp.* dengan streptomisin, aktivitas antibakterinya sangat berbeda jauh.

Kontrol negatif yang digunakan berupa kontrol pelarut (metanol, n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat) dan Medium Ekstrak Tauge. Hasil uji aktivitas antibakteri dari kedua kontrol ini adalah tidak menghasilkan zona hambat untuk bakteri *E. coli*. Kontrol negatif ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut dan Medium Ekstrak Tauge terhadap zona hambat yang dihasilkan. Sedangkan untuk hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*

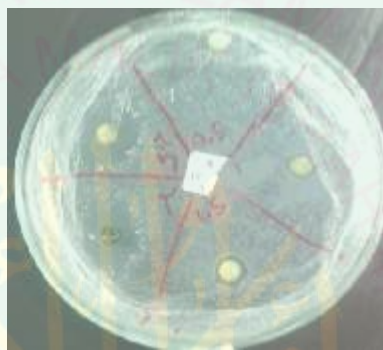
Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)				
	Metanol	n-heksana	Petroleum Eter	Kloroform	Etil Asetat
0,5	0	0,3	4,5	1	0,6
1	0	2,3	5,5	1,3	1,6
1,5	0	3,3	8	1,8	2,6
2	0	4,3	9,2	2,3	3,6
2,5	0	5,2	10	2,3	4,6
Kontrol Pelarut	0	0	0	0	0
Kontrol Media	0				
Penisilin (2,5 %)	25,0				

Keterangan : Kontrol negatif: Pelarut dan Medium Ekstrak tauge  
Kontrol positif: Penisilin

Berdasarkan Tabel 4.4 dapat dikatakan bahwa ekstrak *Chlorella sp.* setelah dihidrolisis dan dipartisi menggunakan variasi pelarut n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol (sebelum dihidrolisis) terhadap bakteri *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak hasil partisi dengan keempat pelarut tersebut cenderung lebih memiliki aktivitas antibakteri dibandingkan dengan ekstrak metanol *Chlorella sp.* Hal ini juga menunjukkan bahwa melalui metode hidrolisis dan partisi akan diperoleh senyawa yang lebih memiliki aktivitas antibakteri.

Ekstrak hasil partisi menggunakan pelarut petroleum eter memiliki zona hambat tertinggi (10 mm) terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan pelarut n-heksana (5,2 mm), kloroform (2,3 mm), dan etil asetat (4,6 mm). Hal ini kemungkinan disebabkan karena senyawa antibakteri *Chlorella sp.* yang terdapat pada ekstrak petroleum lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak yang lain. Selain itu, zona hambat yang dihasilkan oleh pelarut non polar (seperti n-heksana

dan petroleum eter) lebih besar dibandingkan dengan zona hambat yang dihasilkan oleh pelarut polar (seperti etil asetat dan kloroform). Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak pelarut petroleum eter selalu mengalami peningkatan dari konsentrasi 0,5 % hingga 2,5 %. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak petroleum eter *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.6.

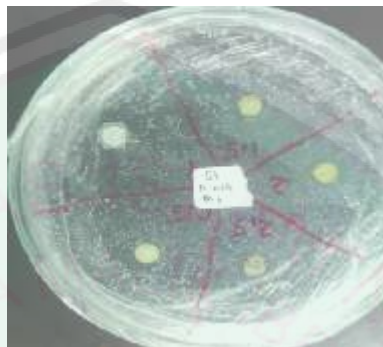


Gambar 4.7 Zona hambat ekstrak petroleum eter *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus*

Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang diberikan oleh ekstrak terhadap bakteri uji, akan semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan. Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan, aktivitas antibakteri hasil partisi dengan pelarut petroleum eter termasuk kuat (10 – 20 mm).

Ekstrak hasil partisi menggunakan pelarut n-heksana terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan zona hambat yang terus mengalami peningkatan dari konsentrasi 0,5 % hingga 2,5 %, sebesar 0,3 mm sampai 5,2 mm. Semakin besar konsentrasi yang diberikan, maka semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan. Zona hambat tertinggi hasil partisi menggunakan pelarut n-heksana terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 5,2 mm. Menurut Davis dan Stout, (1971) dalam Yudha, (2008) kekuatan senyawa antibakterinya (terhadap bakteri

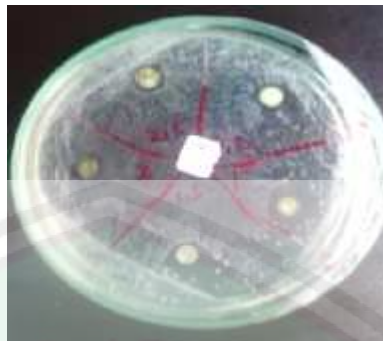
*S. aureus*) tergolong sedang (5 – 10 mm). Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak n-heksana *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.8 Zona hambat ekstrak n-heksana *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus*

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak *Chlorella sp.* positif mengandung golongan senyawa steroid. Ekstrak yang mengandung golongan senyawa steroid terbanyak adalah ekstrak petroleum eter dan n-heksana, hal ini ditunjukkan dengan intensitas warna yang lebih pekat. Hasil dari zona hambat ekstrak petroleum eter lebih besar dibandingkan dengan ekstrak n-heksana. Hal ini kemungkinan disebabkan karena senyawa steroid yang terkandung dalam ekstrak petroleum eter lebih efektif sebagai antibakteri dibandingkan dengan senyawa steroid yang terkandung dalam ekstrak n-heksana.

Ekstrak hasil partisi menggunakan pelarut etil asetat terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan zona hambat yang terus mengalami peningkatan dari konsentrasi 0,5 % hingga 2,5 % sebesar 0,6 mm sampai 4,6 mm. Semakin besar konsentrasi yang diberikan, maka semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak etil asetat *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.8.

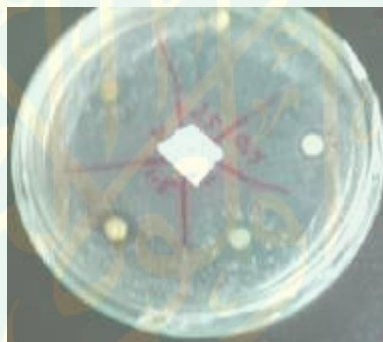


Gambar 4.9 Zona hambat ekstrak etil asetat *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus*

Zona hambat tertinggi hasil partisi menggunakan pelarut etil asetat terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 4,6 mm. Sedangkan, ekstrak hasil partisi menggunakan pelarut kloroform terhadap bakteri *S. aureus* di dapatkan zona hambat yang terus meningkat dari konsentrasi 0,5 – 2 % mulai dari 1 mm hingga 2,3 mm, akan tetapi pada konsentrasi 2,5 % zona hambat yang dihasilkan sama dengan zona hambat pada konsentrasi 2 % yaitu 2,3 mm. Hal ini dimungkinkan karena pada saat pembuatan larutan ekstrak, ekstrak tidak larut sempurna sehingga peresapan kertas cakram juga tidak maksimal. Zona hambat tertinggi hasil partisi menggunakan pelarut kloroform sebesar 2,3 mm. Menurut Davis dan Stout, (1971) dalam Yudha, (2008) kekuatan senyawa antibakterinya (terhadap bakteri *S. aureus*) tergolong lemah (kurang dari 5 mm). Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak kloroform *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.9.

Ekstrak *Chlorella sp.* positif mengandung golongan senyawa tanin. Tanin merupakan senyawa yang bersifat polar. Ekstrak yang positif adanya golongan senyawa tanin adalah ekstrak metanol dan etil asetat. Berdasarkan hasil uji fitokimia, golongan senyawa tanin lebih banyak terekstrak pada pelarut metanol, hal ini karena metanol lebih polar dibandingkan dengan etil asetat. Tetapi zona

hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etil asetat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol. Pada ekstrak metanol tidak dihasilkan zona hambat sama sekali. Hal ini dimungkinkan karena senyawa tanin yang terdapat dalam ekstrak etil asetat lebih efektif sebagai antibakteri dibandingkan dengan senyawa tanin yang terdapat dalam ekstrak metanol. Berdasarkan hasil penelitian ini, senyawa steroid dalam ekstrak *Chlorella sp.* aktivitas antibakterinya lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa tanin. Hal ini dilihat dari zona hambat yang dihasilkan ekstrak petroleum eter *Chlorella sp.* lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat *Chlorella sp.*



Gambar 4.10 Zona hambat ekstrak kloroform *Chlorella sp.* terhadap *S. aureus*

Kontrol positif yang digunakan untuk bakteri *S. aureus* adalah penisilin. Zona hambat yang dihasilkan oleh penisilin terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 25,0 mm. Menurut Davis dan Stout, (1971) dalam Yudha, (2008) berdasarkan zona hambat yang dihasilkan oleh penisilin, kekuatan antibakterinya termasuk sangat kuat (> 20 mm). Apabila dibandingkan dengan zona hambat ekstrak, maka zona hambat yang dihasilkan ekstrak *Chlorella sp.* masih lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat yang dihasilkan kontrol positif.

Menurut pelczar dan Chan (1988) cara kerja penisilin adalah menghambat pembentukan dinding sel bakteri. Struktur dinding sel bakteri dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya. Sel-sel bakteri yang peka terhadap penisilin, akan mengalami pembesaran pada dinding sel, sehingga mengakibatkan sitoplasma mengalir ke dalamnya. Sel kehilangan sitoplasmanya karena lisis dan tinggal membran sitoplasma yang kosong.

Kontrol positif yang digunakan untuk bakteri *E. coli* adalah streptomisin dan untuk bakteri *S. aureus* adalah penisilin. Kontrol positif ini digunakan sesuai kemampuannya terhadap jenis bakteri tertentu. Jika penisilin digunakan untuk bakteri *E. coli*, maka kerja penisilin akan kurang efektif karena berdasarkan struktur dinding sel, bakteri *E. coli* memiliki struktur dinding sel yang lebih tebal dibandingkan dengan struktur dinding sel yang dimiliki oleh bakteri *S. aureus*. Hal ini juga karena sifat bakteri *E. coli* lebih tahan terhadap penisilin, sedangkan bakteri *S. aureus* lebih sensitif.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini berupa pelarut (metanol, n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat) dan Medium Ekstrak Tauge. Hasil uji aktivitas antibakteri dari kedua kontrol ini adalah tidak menghasilkan zona hambat untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh masing-masing ekstrak *Chlorella sp.* bukan berasal dari pengaruh adanya pelarut maupun Medium Ekstrak Tauge, tetapi murni dari senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri dalam ekstrak tersebut. Selain itu, dengan jumlah bakteri yang sama



ekstrak mikroalga *Chlorella sp.* lebih efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri *E. coli*.

Hasil dari penelitian ini, kekuatan senyawa antibakteri dari ekstrak *Chlorella sp.* secara berturut turut adalah ekstrak petroleum eter (kuat) > n-heksana (sedang) > etil asetat (lemah) > kloroform (lemah) > metanol (tidak memiliki aktivitas antibakteri). Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan aktivitas antibakteri ekstrak *Chlorella sp.* lebih efektif untuk bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri *E. coli*. Hal ini disebabkan karena kedua bakteri ini memiliki perbedaan struktur dinding sel, sehingga menyebabkan perbedaan kesensitifitan terhadap senyawa antibakteri tertentu. Irianti (2006) dinding sel bakteri *E. coli* lebih tebal dibandingkan dengan dinding sel bakteri *S. aureus*, karena dinding sel bakteri *E. coli* terdiri atas peptidoglikan, lipopolisakarida, dan lipoprotein sedangkan bakteri *S. aureus* dinding selnya hanya tersusun atas peptidoglikan saja. Sehingga bakteri *S. aureus* lebih mudah untuk dihambat dibandingkan dengan bakteri *E. coli*.

Analisis data dilakukan dengan menggunakan Analisis Ragam Dua Arah (*Two Way Anova*) dengan taraf kepercayaan 5 % untuk mengetahui pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak yang berbeda serta pemberian pelarut yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hasil analisis data menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak yang berbeda dan pelarut yang berbeda sama-sama berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hasil analisis data menunjukkan bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  sehingga  $H_0$  ditolak, yang artinya variasi konsentrasi ekstrak 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2%, dan 2,5 % serta variasi pelarut

metanol, n-heksana, petroleum eter, kloroform, dan etil asetat sama-sama berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) merupakan uji lanjutan yang dilakukan untuk mengetahui pada konsentrasi mana dan pelarut apa yang memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa konsentrasi yang paling baik adalah 2,5 %, sedangkan pelarut yang paling baik untuk digunakan adalah petroleum eter. Pada konsentrasi 2,5 % dan pada pelarut petroleum eter berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak dan pelarut yang berbeda juga akan menghasilkan zona hambat yang berbeda pula terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

#### **4.7. Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam Mikroalga *Chlorella sp.***

Identifikasi golongan senyawa aktif *Chlorella sp.* dilakukan secara kualitatif menggunakan uji fitokimia, untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak. Identifikasi golongan senyawa aktif ini dilakukan dengan menggunakan reagen kimia. Secara umum uji fitokimia merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu reaksi warna. Pengujian golongan senyawa aktif *Chlorella sp.* dilakukan untuk ekstrak yang memiliki aktifitas antibakteri tertinggi. Golongan senyawa aktif yang diuji adalah triterpenoid, alkaloid, flavonoid, steroid, dan tanin. Hasil identifikasi golongan senyawa aktif dalam masing-masing ekstrak *Chlorella sp.* dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Berdasarkan Tabel 4.5 diketahui bahwa ekstrak *Chlorella sp.* dari semua pelarut yang digunakan mengandung golongan senyawa steroid. Adanya golongan senyawa steroid pada semua pelarut ini, diindikasikan gugus metil yang terikat pada kerangka steroid berbeda-beda. Hal ini mengakibatkan perbedaan sifat kepolarannya. Ekstrak petroleum eter kandungan golongan senyawa steroidnya lebih banyak dibandingkan ekstrak yang lain. Hal ini ditunjukkan dengan intensitas warna yang lebih pekat, semakin pekat warna yang dihasilkan, diasumsikan kandungan golongan senyawanya lebih banyak. Indrayani, dkk. (2006) uji steroid akan memberikan warna hijau kebiruan dengan pencampuran asam kuat.

Hasil pengamatan pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *Chlorella sp.* memberikan warna hijau kebiruan sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak tersebut mengandung golongan senyawa aktif steroid. Senyawa steroid cenderung bersifat non polar, berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak *Chlorella sp.* yang banyak mengandung senyawa steroid adalah ekstrak *Chlorella sp.* dengan petroleum eter (non polar).

Selain itu, ekstrak metanol dan etil asetat *Chlorella sp.* mengandung golongan senyawa tanin. Pada penelitian ini, metode yang positif mengandung golongan senyawa tanin adalah metode penambahan larutan gelatin. Salah satu sifat tanin adalah mampu mengendapkan protein, sehingga apabila tanin bereaksi dengan gelatin maka akan terbentuk endapan putih. Gelatin merupakan salah satu jenis protein.

Tabel 4.5 Hasil Uji fitokimia ekstrak *Chlorella sp.*

Golongan Senyawa aktif	Ekstrak				
	Metanol	n-Heksana	Petroleum eter	Kloroform	Etil asetat
1. Triterpenoid	-	-	-	-	-
2. Flavonoid	-	-	-	-	-
3. Tanin					
a. Gelatin	++	-	-	-	+
b. FeCl <sub>3</sub>					
4. Steroid	+	++	+++	+	+
5. Alkaloid					
a. Mayer	-	-	-	-	-
b. Dragendorff	-	-	-	-	-

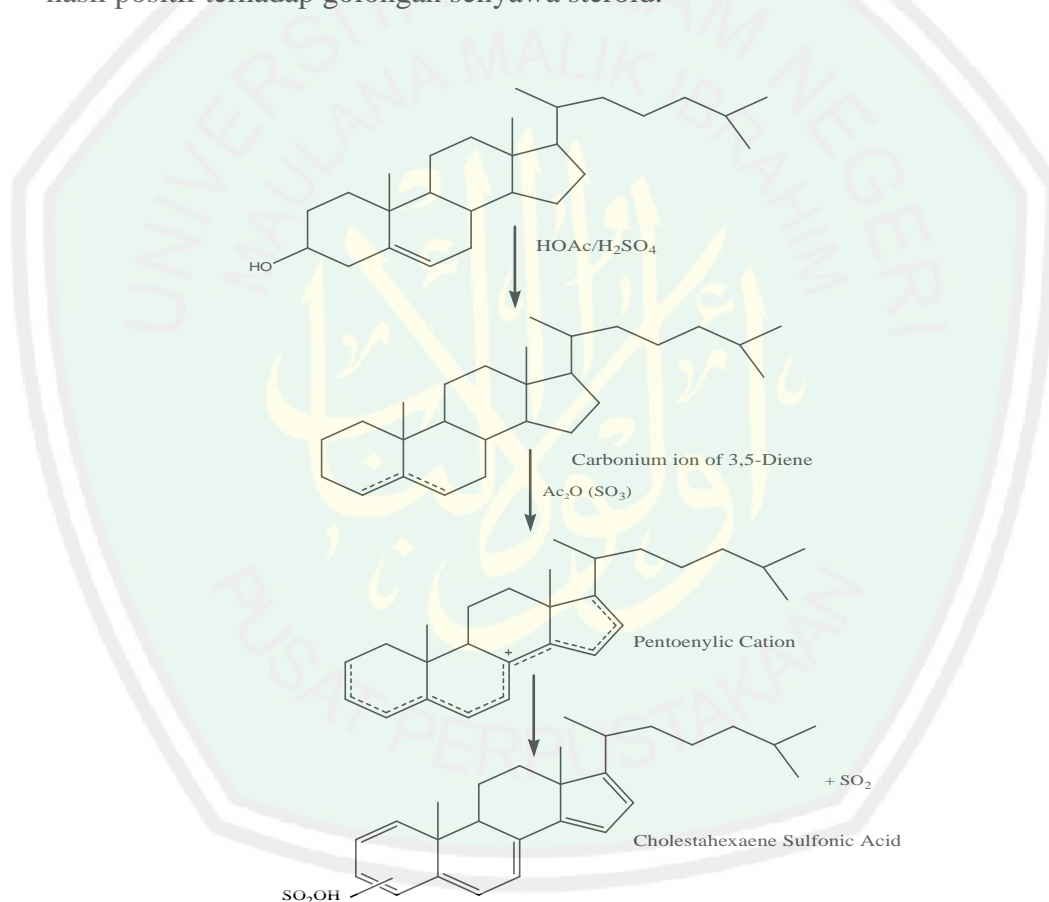
Keterangan: +++ = kandungan golongan senyawa aktif sangat banyak  
 ++ = Kandungan golongan senyawa aktif cukup banyak  
 + = Terdapat golongan senyawa aktif  
 - = Tidak ada golongan senyawa aktif

Tanin merupakan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk turunan senyawa fenol, umumnya bersifat polar (Harborne, 1987). Metanol bersifat lebih polar dibandingkan dengan etil asetat, mengakibatkan kandungan senyawa tanin yang larut dalam ekstrak metanol lebih banyak dibandingkan dalam ekstrak etil asetat. Hal ini ditunjukkan dengan banyaknya endapan yang terjadi pada ekstrak metanol dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Berdasarkan hasil uji fitokimia tersebut, maka dapat diasumsikan bahwa adanya kandungan steroid dan tanin dalam ekstrak *Chlorella sp.* memperkuat potensinya sebagai antibakteri.

#### 4.7.1. Steroid

Uji fitokimia golongan steroid dalam ekstrak *Chlorella sp.* dilakukan dengan penambahan kloroform, asam asetat anhidrat dan asam sulfat (reagen Liebermann-Burchard) ke dalam sampel. Adanya golongan senyawa steroid

ditandai dengan munculnya warna hijau biru (Kristanti, dkk., 2008). Menurut Halimah (2010) senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dengan adanya penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna. Reaksi dugaan antara steroid dengan reagen Liebermann-Burchard dapat dilihat pada Gambar 4.11. Semua ekstrak *Chlorella sp.* yang diujikan memberikan hasil positif terhadap golongan senyawa steroid.



Gambar 4.11 Reaksi dugaan antara steroid dengan reagen Liebermann-Burchard (Burke, dkk., 1974)

Steroid bersifat non polar, oleh karena itu steroid lebih banyak larut dalam pelarut yang bersifat non polar seperti n-heksana dan petroleum eter. Kandungan senyawa steroid pada ekstrak etil asetat dan ekstrak kloroform lebih sedikit dibandingkan dengan ekstrak n-heksana dan ekstrak petroleum eter. Pada pelarut

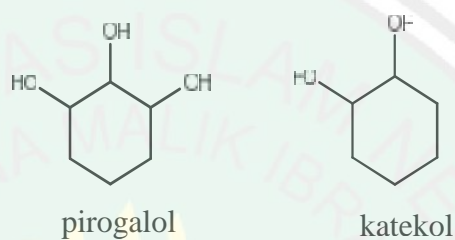
metanol juga positif mengandung golongan senyawa steroid. Hal ini diduga karena pada ekstrak metanol senyawa steroid masih terikat pada ikatan glikosidanya sehingga ikut terekstrak dalam pelarut metanol yang bersifat polar. Adanya perbedaan gugus metil yang terikat pada kerangka steroid, mengakibatkan perbedaan sifat kepolarannya. Menurut Sriwahyuni (2010) glikosida merupakan suatu senyawa yang terdiri atas gula (glikon) dan bukan gula (aglikon) yang dihubungkan oleh ikatan glikosida. Beberapa persenyawaan steroid mengandung gugus -OH yang disebut sterol, sehingga sifatnya cenderung lebih polar. Hal ini juga yang memungkinkan senyawa steroid dalam *Chlorella sp.* dapat terekstrak oleh pelarut metanol.

#### 4.7.2 Tanin

Pengujian golongan senyawa tanin pada ekstrak *Chlorella sp.* dilakukan dengan menggunakan 2 reagen yaitu menggunakan penambahan larutan gelatin dan menggunakan larutan  $\text{FeCl}_3$ . Hasil dari uji fitokimia golongan tanin yang memberikan hasil positif adalah metode penambahan larutan gelatin. Hasil dengan metode  $\text{FeCl}_3$  adalah negatif. Tanin diklasifikasikan menjadi dua yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin yang mampu bereaksi dengan  $\text{FeCl}_3$  adalah tanin terhidrolisis, dimana tanin jenis ini mampu mengkhelat logam. Salah satu contoh senyawa golongan tanin yang mampu bereaksi dengan  $\text{FeCl}_3$  adalah katekol (memberikan warna hijau) dan pirogallol (memberikan warna biru).

Ekstrak *Chlorella sp.* yang positif mengandung golongan senyawa tanin adalah ekstrak metanol dan etil asetat. Sedangkan ekstrak n-heksana, petroleum eter, dan kloroform menunjukkan hasil negatif adanya tanin. Tanin merupakan

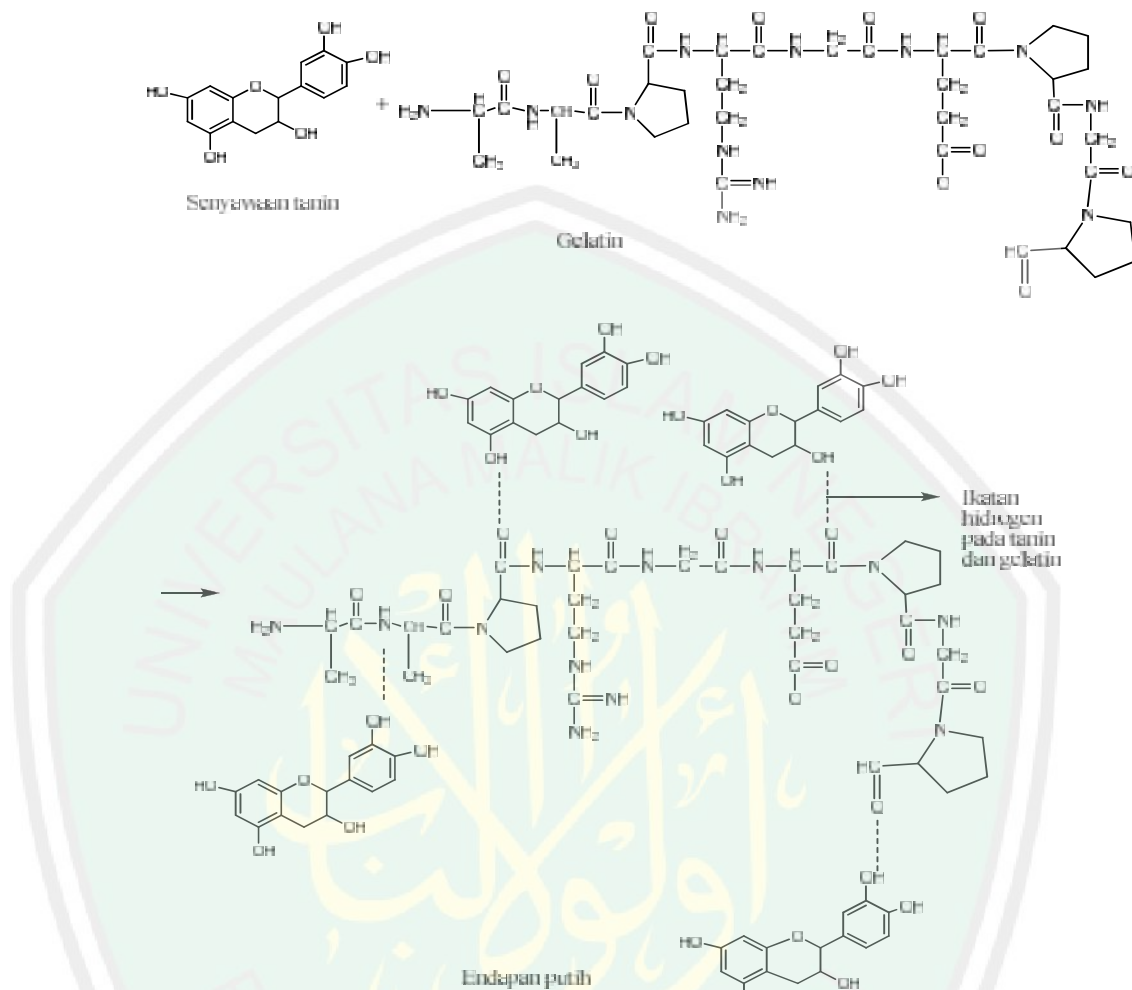
golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk senyawa turunan fenol, yang memiliki gugus hidroksi sehingga bersifat polar. Metanol dan etil asetat adalah pelarut yang bersifat polar. Khamidah (2013) hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Chlorella sp.* mengandung senyawa tanin.



Gambar 4.12 Jenis Tanin

Sifat dari tanin adalah mampu mengendapkan larutan gelatin. Harborne (1987) gelatin merupakan protein alami. Gelatin mengandung protein sehingga terbentuknya senyawa tanin protein dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara tanin dan protein pada gelatin, sehingga terbentuk endapan putih. Reaksi dugaan antara tanin dengan gelatin ditunjukkan pada Gambar 4.13.

Gilman, dkk. (1991) pada proses perusakan membran sel, ion  $H^+$  dari senyawa fenol dan turunannya termasuk tanin akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk dari membran sel, sehingga membran akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan dalam pertumbuhan bahkan kematian.



Gambar 4.13 Reaksi dugaan antara tanin dengan gelatin (Lemmens dan Soetjipto, 1991 dalam Halimah, 2010)

#### 4.8. Mikroalga dalam Persepektif Islam

Allah SWT berfirman dalam surat al Furqan ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمَلِكِ  
وَحَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: “Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, lalu Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat.”(Qs. al Furqan : 2).



Hal ini menunjukkan bahwa Allah SWT telah menetapkan segala sesuatu dari apa yang diciptakan-Nya sesuai dengan hikmah yang diinginkan-Nya, dan bukan karena nafsu atau kelalaian, melainkan segala sesuatu berjalan sesuai dengan ketentuan-Nya hingga hari kiamat dan setelah kiamat (Qurthubi, 2009). Allah SWT penguasa langit dan bumi, baik dalam penciptaan, pengendalian, maupun pengaturannya. Dia tidak mempunyai anak. Mahasuci Dia. Dia tidak beranak, tidak diperanakkan, dan tidak mempunyai sekutu dalam kerajaan-Nya. Dia-lah yang menciptakan seluruh makhluk tanpa seorang pun membantu-Nya dalam penciptaan itu. Oleh karena itu, Dia-lah yang berhak disembah. Tidak ada Tuhan selain Dia. Dia-lah yang telah menciptakan manusia dengan bentuk, ukuran, dan perawakan yang sempurna. Tidak ada cela ataupun kekurangan dalam penciptaan, perbuatan, hukum, dan syariat-Nya. Mahasuci Dia Yang Mahaagung (Qarni, 2008). Ayat di atas menerangkan bahwa semua yang diciptakan oleh Allah SWT dengan ukuran sesuai dengan ketentuan-Nya, dan disertai dengan manfaat bagi kehidupan manusia.

Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia, semua memiliki makna dan manfaat masing-masing. Begitu pula dengan tumbuh-tumbuhan di bumi ini, Allah SWT telah menciptakan berbagai jenis tumbuhan dengan ukuran mulai dari yang makro (besar) hingga yang mikro (kecil). Ada tumbuhan besar yang memiliki akar, batang, dan daun (tumbuhan tingkat tinggi) dan ada pula tumbuhan yang berukuran kecil yang tidak memiliki akar, batang, dan daun tetapi memiliki struktur sel yang sederhana (tumbuhan tingkat rendah).

Mikroalga *Chlorella sp.* adalah salah satu jenis tumbuhan tingkat rendah, yang berdasarkan penelitian ini memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu bahkan jenis tumbuhan yang berukuran kecil memiliki manfaat bagi kehidupan manusia. Manusia sebagai makhluk ciptaan Allah SWT yang paling sempurna wajib mensyukuri atas apa yang telah diciptakan-Nya. Selain itu, manusia sebagai makhluk yang telah dibekali akal dan pikiran mempunyai kewajiban dan bertanggung jawab terhadap alam sekitar yaitu dengan mengembangkan ilmu pengetahuan.

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dapat membunuh atau menghambat bakteri yang dapat menyebabkan penyakit, dengan adanya penelitian ini dapat diketahui bahwa salah satu manfaat yang dapat diambil dari tumbuhan khususnya mikroalga *Chlorella sp.* adalah sebagai obat-obatan. Sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala penyakit di bumi ini bukan tanpa disertai dengan obat penawarnya. Ahmad meriwayatkan dari Usamah bin Syuraik (Qardhawi, 1998):

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمَهُ مَنْ عِلِمَهُ، وَجَهْلَهُ مَنْ جَهْلَهُ  
( )

“*Sesungguhnya Allah tidak menurunkan suatu penyakit kecuali Dia menurunkan obatnya juga. Orang yang tahu obatnya, berarti dia mengetahui. Sedangkan orang yang tidak tahu obatnya, maka dia tidak mengetahui*” (HR Ahmad).

Berdasarkan hadits di atas, manusia sebagai makhluk Allah SWT yang telah diberikan akal dan fikiran yang sempurna wajib untuk berfikir bagaimana menemukan obat-obatan dari segala jenis penyakit, dengan cara mengembangkan

ilmu pengetahuan yang ada. Manusia yang berfikir pasti memahami bahwa Allah SWT menciptakan suatu penyakit tentu disertai dengan obatnya. Pemanfaatan mikroalga *Chlorella sp.* sebagai antibakteri (obat) merupakan salah satu ikhtiyar manusia mencari obat untuk penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri patogen.

Al Qur'an dan Hadist banyak yang menyebutkan beragam penyembuhan dan obat-obatan yang diridhoi Allah SWT. Pada zaman modern ini obat-obatan yang berasal dari alam lebih di maksimalkan penggunaannya dari pada obat-obatan yang sintetis (buatan). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa mikroalga *Chlorella sp.* berpotensi sebagai antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Hal ini membuktikan bahwa mikroalga *Chlorella sp.* merupakan salah satu tanda-tanda kebesaran Allah SWT bagi kehidupan manusia.

*Chlorella sp.* yang digunakan dalam penelitian ini, habitatnya berada pada air tawar (misalnya sungai). Umumnya *Chlorella sp.* merupakan sumber makanan bagi ikan. Allah SWT menciptakan mikroalga ini dengan berbagai kandungan, misalnya: karbohidrat, protein, lipid, dan komponen bioaktif yang bermanfaat, karena itu *Chlorella sp.* dijadikan sumber makanan bagi ikan. Selain itu, *Chlorella sp.* juga dapat menghasilkan oksigen dari hasil fotosintesis, dan oksigen ini dimanfaatkan oleh biota air tawar untuk keberlangsungan hidup. Allah SWT menciptakan *Chlorella sp.* dengan ukuran yang mikroskopis, tetapi dengan ukurannya yang mikroskopis mikroalga ini memiliki banyak manfaat. Salah satu komponen bioaktif yang bermanfaat di dalam *Chlorella sp.* adalah senyawa

antibakteri, dengan ukurannya yang mikroskopis Allah SWT membekali senyawa antibakteri untuk pertahanan hidup *Chlorella sp* dari gangguan bakteri.

Setelah mengetahui bahwa mikroalga *Chlorella sp*. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Penulis semakin mengetahui bahwa ilmu pengetahuan dan Al Qur'an tidak dapat dipisahkan satu sama lain. Ilmu yang tidak disertai dengan agama akan tumbang dan hancur karena tidak adanya kekuatan iman. Sedangkan agama tanpa ilmu akan menjadi rusak karena akan dapat salah mengartikan dan membuat manusia lupa atas kekuasaan Allah SWT. Seperti kata pepatah "ilmu padi, makin berisi akan makin merunduk" yang artinya semakin tinggi ilmu seseorang semakin rendah hatinya. Manusia umumnya memiliki sifat sombong dan angkuh. Semakin dia berilmu maka dia akan semakin menyombongkan diri. Oleh karena itu, dengan bertambahnya ilmu yang dimiliki seseorang, kepatuhan terhadap Allah SWT juga akan semakin bertambah, dengan mensyukuri atas apa yang sudah diciptakan-Nya.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1. Kesimpulan

1. Fraksi hasil partisi ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, tetapi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, hal ini ditunjukkan dengan nilai zona hambat. Fraksi petroleum eter memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dibandingkan dengan fraksi n-heksana, kloroform, dan etilasetat. Hasil zona hambat tertinggi dari masing-masing fraksi adalah etil asetat sebesar 4,6 mm, kloroform sebesar 2,3 mm, petroleum eter sebesar 10 mm, dan n-heksana sebesar 5,2 mm.
2. Golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi hasil hidrolisis ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah steroid pada fraksi petroleum eter.

#### 5.2. Saran

1. Hasil uji aktivitas antibakteri mikroalga *Chlorella sp.* menunjukkan fraksi petroleum eter memiliki aktivitas tertinggi terhadap bakteri *S. aureus*, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dari mikroalga *Chlorella sp.* dengan variasi konsentrasi yang lebih besar dan menggunakan bakteri patogen yang lain.
2. Diperlukan identifikasi golongan senyawa aktif lebih spesifik dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan bantuan instrumen GC-MS agar struktur senyawa aktif dalam mikroalga *Chlorella sp.* dapat diketahui.

## 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.
- Achmadi, S. S. 1992. *Teknik Kima Organik*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Akbar, T. M. 2008. Pengaruh Cahaya terhadap Senyawa Antibakteri dari *Chaetoceros gracilis*. *Skripsi* Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Amaliyah, S. 2013. Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge. *Skripsi*. Jurusan Kimia UIN Malang.
- Andrian, R. 2013. *Chlorella sp.* <http://www.google.com/image> (Diakses pada tanggal 23 Mei 2014).
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arishandy, D.N.A.T.A. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah (*Piper betle L. var rebrum*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Ayu, K.C. 2004. Studi Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri pada 10 Merk The Hijau yang Beredar Di Pasaran Kota Malang. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Program Sarjana Universitas Brawijaya.
- Becker. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. London: Cambridge University Press.
- Bellinger, E. G. and Sigeo, D. C. 2010. *Freshwater Algae Identification and Use as Bioindicators*. USA: Wiley-Blackwell.
- 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.

- Bold dan Wynne. 1985. *Introduction to The Algae Structure And Reproduction Pentice –Hall, Inc.* Englewood Cliff.
- Borowitzka, M. A. 1995. Microalgae as Source of Pharmaceutical and Other Biologically Active Compounds. *Journal of Applied Phycology*. Volume 7: 3-15.
- Borowitzka, M. A. dan Lesley, J. B. 1988. *Microalgae Biotechnology*. London: Cambridge University Press.
- Brock dan Madigan. 1991. *Biology of Microorganism Fifth Edition*. Prentice Hall International.
- Burke, R. W.; Diamondstone, B. I.; Velapoldi, R. A. dan Menis, O. 1974. Mechanisme of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol. *Clin. Chem.* 20/7: 794 – 801.
- Chalid, S. Y., Amini, S., dan Lestari, S. D. 2012. Kultivasi *Chlorella sp.* pada Media Tumbuh Yang Diperkaya dengan Pupuk Anorganik dan Soil Extract. *Jurnal*. Jakarta: Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah.
- Chilmawati, D. dan Suminto. 2010. Penggunaan Media Kultur yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Chlorella sp.* *Jurnal Saintek Perikanan*. Volume 6, Nomor 1: 71-78.
- Chu, C. Y.; Liao, W. R.; Huang, R. dan Lin, L. P. 2004. Haemagglutinating and Antibiotic Activities of Freshwater Microalgae. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Volume 20: 817-825.
- Clark, J. 2007. Gambar Lempengan Setelah Pelarut Bergerak Setengah Dari Lempengan. [http://www.chem-is-try.org/materi\\_kimia/instrumen\\_analisis/kromatografi1/kromatografi\\_lapis\\_tipis](http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/instrumen_analisis/kromatografi1/kromatografi_lapis_tipis) (Diakses pada tanggal 23 Mei 2014).
- Damianus, M. 2011. Aktivitas Ekstrak Mikroalga sebagai Inhibitor Helikase Virus *Japanese encephalitis*. *Skripsi Diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Dewi, Y. S. dan Gultom, Y. H. 2009. Pemanfaatan Algae *Chlorella sp.* dan Eceng Gondok untuk Menurunkan Tembaga (Cu) pada Industri Pelapisan Logam. *Seminar Tugas Akhir*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Didik, G. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi), Jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Dwidjoseputro, D. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Malang: IKIP Malang.
- El-Baky; El-Baz dan El-Baroty. 2008. Evaluation of Marine Alga *Ulva lactuca* L. as a Source of Natural Preservative Ingredient. *American-Eurasian Journal. Agricultural and Enviroment Science*. Volume 3(3): 434-444.
- Entjang, Indan. 2003. *Mikrobiologi Dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Yang Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Firdausi, N. 2011. *Eschericia coli*. <http://panggilsayabella.com/2011/06> (Diakses pada tanggal 23 Mei 2014).
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S. dan Nuri. 2011. Uji Aniiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional* 16(1) 34-42. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Fogg, G.E. dan Thake, B. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*, 3<sup>rd</sup> ed. Wisconsin: The University of Wisconsin Press.
- Gibson dan Roberfroid. 1995. Dietary Modulation of The Human Colonic Microbiota: Introducing The Concept of Prebiotics. *Journal of Nutrition*. Volume 125: 1401–1412.
- Gritter, R. J. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Guenther. 1987. *Minyak Atsiri Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Gunawan. 2012. Pengaruh Perbedaan pH pada Pertumbuhan Mikroalga Klas *Chlorophyta*. *Bioscientiae*, 9 (2): 62-65.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Aning-Aning (*Acalypha indica Linn.*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina Leach*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Handoko, D.S.P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis. *Jurnal*. Jember: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember. *SIGMA*. Vol.9 No.1 ISSN 1410-5888.
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.



- Hart, H. 1987. *Kimia Organik Suatu Kuliah Singkat*. Terjemahan oleh Achmadi. Jakarta: Erlangga.
- Hasanah. 2011. *Mikroenkapsulasi Biomassa *Porphyridium cruentum**. Skripsi Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hayati, K., Jannah, A., Ningsih R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.). *Molekul*. Vol 7 No 1. Malang : Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hidayati, N. 2009. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun The (*Camellia sinensis* L, v. assamica) Tua Hasil Ekstraksi Menggunakan Pelarut Akuades dan Etanol. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hira, A. 2014. *Staphylococcus aureus*. <http://www.anneahira.com/bakteri-staphylococcus-aureus.html> (Diakses pada tanggal 23 Mei 2014).
- Hostettman; Wolfender dan Rodrigue. 1997. Rapid Detection and Subsequent Isolation of Bioactive Constituent of Crude Extract. *J Plant Med*. Volume 6: 2-10.
- Indrayani, L.; Soetjipto, H. dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Bandung: CV. Yrama Widya.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton, Zooplankton Pakan Alam untuk Pembenihan Organisme Laut*. Yogyakarta: Kanisius.
- Jawetz; Edward; Geo; Janet dan Nicholas. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran. Edisi I. Edi Nugroho dan R., F., Maulana*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Kabinawa, I.N.K. 2001. *Mikroalga sebagai Sumber Daya Hayati (SDH) Perairan dalam Perspektif Bioteknologi*. Bogor: Puslitbang Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Karger; Synder dan Hovart. 1973. *An Introduction to Separation*. Brisbane: John dan Sons.
- Karsinah; Lucky; Suharti dan Mardiasuti. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta: Universitas Indonesia.

- Khamidah, U. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Koeriwa, Y.A., Fatimawali dan Wiyono, W.I. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Plucea indica L.*). *Jurnal*. Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT.
- Kristanti, A.N, dkk. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kumar and Singh. 1979. *A Text Book on Algae*. London: Macmilan and Co Ltd.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavanoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Lestari, S.M. 2012. Uji Penghambatan Ekstrak Daun Sidaguri (*Sida rhombifolia L.*) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Golongan Senyawa pada Fraksi yang Aktif. *Skripsi*. Jakarta: FMIPA Farmasi Universitas Indonesia.
- Madigan, T. M.; Martinko, J. M. dan Parker, J. 2000. *Brock Biology of Microorganism 9<sup>th</sup> ed.* New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- Makareviciene, V.; Andruleviciute, V.; Skorускаite, V. dan Kasperoviciene, J. 2011. Cultivation of Microalgae *Chlorella sp.* and *Scenedesmus sp.* as a Potential Biofuel Feedstock. *Enviromental Research, Engineering and Management*. Volume 57, Nomor 3: 21-27.
- Mardiyah, Ulfatul. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan terhadap 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Perairan Banyuwangi. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Marliana, S.D., Suryanti, V. dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA UNS. *Jurnal Biofarmasi 3 (1): 26-31 ISSN: 1693-2242*.

- Maunatin, Anik. 2013. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Malang: Biologi UIN Malang.
- Merizawati. 2008. Analisis Sinar Merah, Hijau dan Biru (RGB) untuk Mengukur Kelimpahan Fitoplankton (*Chlorella sp.*) Skripsi Diterbitkan. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.
- Metting, B. dan Pyne, J. W. 1986. Biologically Active Compounds from Microalga. *Journal of Enzyme Microb. Tech.* Volume 8.
- Miftahurrahmah. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Pesisir Laut Banyuwangi. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Morin, R.B. dan Gorman, M. 1995. *Kimia dan Biologi Antibiotik -lactam (Chemistry and Biologi -lactam Antibiotics) Edisi III*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Muhibah, Sifia Rochana Nur. 2013. Uji Golongan Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah *Eucheuma Cottonii* dari Petani Lobuk Madura. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mulyono, HAM. 2009. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Myers. 1962. *Physiology and Biochemistry of Algae*. New York: Academic Press.
- Nadia, A. 2009. Kurva Pertumbuhan Bakteri. [www.ashrinadia.wordpress.com](http://www.ashrinadia.wordpress.com) (Diakses pada tanggal 11 Maret 2014).
- Naim, R. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tanaman (online). <http://www.kompas.com/kompas-cetak/04/09/15/sorotan/1265264.htm>
- Nakayama, R. 1992. *Scientific Reports on Chlorella In Japan*. Japan: Silpaque Publishing, Inc.
- Nur dan Adijuwana. 1989. *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37.

- Ordog, V.; Stirk, W. A.; Lenobel, R.; Bancirova, M.; Strnad, M.; Staden, J. V.; Szigeti, J. dan Nemeth, L. 2004. Screening Microalgae for Some Potentially Useful Agricultural and Pharmaceutical Secondary Metabolites. *Journal of Applied Phycology*. Volume 16: 309-314.
- Pelczar dan Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi, Alih Bahasa: Hadioetomo, R.S.* Jakarta: UI Press.
- Permanasari, R. 2008. Karakterisasi Substrat Antimikroba Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Daging Sapi dan Aktivitas Antagonistiknya terhadap Bakteri Patogen. *Skripsi Diterbitkan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Pranayogi, D. 2003. *Studi Potensi Pigmen Klorofil dan Karotenoid dari Mikroalga Jenis Chlophyceae*. Lampung: Universitas Lampung.
- Pratama. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora Persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Staphylococcus Aureus* Difusi Agar. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Surabaya: ITS.
- Pratt, R.; Daniels, T. C.; Eiler, J. B.; Gunnison, J. B.; Kumler, W. D. 1944. Chlorellin, an Antibacterial Substance from Chlorella. *Science*. 99: 351-352.
- Prescott. 1970. *The Fresh Water Algae*. Iowa: Brown Company Publisher.
- Prihantini, N. B; Putri, B. dan Yuniati, R. 2005. Pertumbuhan *Chlorella sp.* dalam Medium Ekstrak Tauge (MET) dengan Variasi pH Awal. *Makara, Sains*. Volume 9, Nomor 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.
- Purwaningsih, Y. 2003. Isolasi dan Identifikasi senyawa flavonoid dari BijiKacang Tunggak (*Vigna unguiculata L. Walp*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Puspita, M.D.A. 2009. Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran untuk Pemisahan Komponen Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*). *Skripsi Diterbitkan*. Bogor: Departemen Kimia Fakultas MIPA. IPB.

- Qardhawi, Y. 1998. *Sunnah Rasul Sumber Ilmu Pengetahuan dan Peradaban*. Jakarta: Gema Insani Press.
- Qarni, A. 2008. *Tafsir Muyassar Jilid 3 Juz 17 – 24*. Jakarta: Qisthi Press.
- Qarni, A. 2008. *Tafsir Muyassar Jilid 3 Juz 24 – 30*. Jakarta: Qisthi Press.
- Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Rachmaniah, O.; Setyarini, R. D. dan Maulida, L. 2010. Pemilihan Metode Ekstraksi Minyak Alga dari *Chlorella sp.* dan Prediksinya sebagai Biodiesel. *Seminar Teknik Kimia Soehadi Reksowardojo*. Surabaya: Jurusan Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh November.
- Rasoul-Amini, S.; Montazeri-Najafabady, N.; Mobasher, M. A.; Hoseini-Alhashemi, S. dan Ghasemi, Y. 2011. *Chlorella sp.* : A New Strain With Highly Saturated Fatty Acids for Biodiesel Production in Bubble – Column Photobioreactor. *Applied Energy*.
- Renaud, S. M.; Parry, D. I. dan Thinh, L. V. 1994. Microalgae for Use in Tropical Aquaculture I: Gross Chemical and Fatty Acid Composition of Twelve of Microalgae from The Northern Territory, Australia. *Journal of Applied Phycology*. Volume 6: 337-345.
- Reveny, J. 2009. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper betle* Linn.). *Jurnal*. Medan: Fakultas farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Richmond, A. E. 1986. Microalgae Culture. *CFC Critical Review in Biotechnology*, 4(4): 364-438
- Robinson. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Rostini, I. 2007. Kultur Fitoplankton (*Chlorella sp.* dan *Tetraselmis chuii*) pada Skala Laboratorium. *Skripsi* Diterbitkan. Jatinangor: Universitas Padjajaran.
- Saadudin, E.; Fitri, S. dan Wargadalam, V. 2011. Karakteristik Asam Lemak Mikroalga untuk Produksi Biodiesel. *Ketenagalistrikan dan Energi Terbarukan*. Volume 10, Nomor 2: 131-140.
- Sachlan, M. 1982. *Planktonologi*. Semarang: Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Diponegoro.
- Safitri, R. dan Novel, S.S. *Medium Analisis Mikroorganisme*. Jakarta: Trans Info Media.

- Saifudin, A., Suparti, Fuad, Anang dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus roseus* [L] G. Don Berbunga Merah. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Salle. 1961. *Fundamental Principle of Bacteriologi 5th Edition*, MC Graw Hill Book Company Inc. New York, 414-418: 719-739.
- Sastrohamidjojo. H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta : UGM Press.
- Setiaji, A. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol 70% Rhizoma Binahong (*Anredera cardifolia* (Tenore) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Dan *Escherichia coli* ATCC 11229 Serta Skrining Fitokimianya. *Makalah*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Setyaningsih, I.; Linawati; Trianti, R. dan Ibrahim, B. 1999. Ekstraksi dan Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Chlorella* sp. *Bulletin THP*. Volume VI, Nomor 1.
- Setyaningsih, I.; Desniar dan Sriwardani, T. 2005. Konsentrasi hambatan Minimum Ekstrak *Chlorella* sp. Terhadap Bakteri dan Kapang. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. Volume VIII, Nomor 1: 25-34.
- Shiddieqy, T. M. H. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Semarang: PT. Pustaka Rizki Putra.
- Sidabutar, E. 1999. Pengaruh Jenis Medium Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella* sp. terhadap Aktivitas Senyawa Pemacu Pertumbuhan yang Dihasilkan *Skripsi* Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Soetan, K., Oyekenle, M., Aiyelaagbe, O., dan Fafunso, M. 2006. Evaluation of The Antimicrobial Activity of Saponins Extract of *Sorgum Bicolor* L. Moench, *African Journal of Biothechnology*, Vol 5 (23):2405 – 2407.
- Srinivasakumar, K. P. dan Rajasehkar, M. 2009. In Vitro Bactericidal Activity and Sensitivity Pattern of Isolated Marine Microalgae against Selective Human Bacterial Pathogens. *Indian Journal of Science and Technology*. Volume 2, Nomor 8: 16-23.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia salina* Leach). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

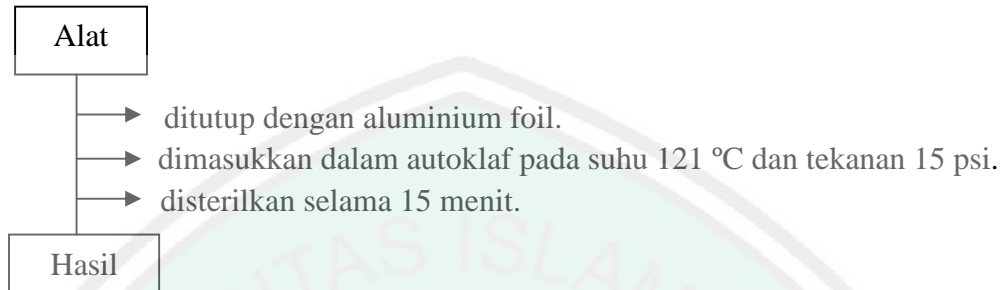
- Sriwardani, T. 2000. Pemisahan Ekstrak Intraseluler dari Mikroalga *Chlorella sp.* dan Penentuan Konsentrasi Hambatan Minimum Terhadap Bakteri dan Kapang Patogen. *Skripsi* Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Stanier, R. Y.; Doudoroff, M. dan Adelberg, E. A. 1970. *The Microbial World 3<sup>rd</sup> ed.* New Jersey: Prentice-Hall Inc.
- Steenblock. 1996. *Chlorella Makanan Sehat Alami.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Sulastry, T. dan Kurniawati, N. 2010. Isolasi Steroid dari Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Plucea Indica L.*). *Jurnal Chemica Vol. 11 Nomor 1.*
- Suriawiria. 2005. *Mikrobiologi Dasar.* Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Susanti, I. 2000. Mempelajari Aktivitas “Growth Promotore” dari Ekstraseluler *Chlorella sp.* dengan Perlakuan Pemanasan dan Penyimpanan. *Skripsi* Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Syamsudin, Tjokrosonto, S., Whyuono S. dan Mustofa. 2007. Aktivitas Antiplasmodium dari Dua Fraksi Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Asam Kandis. *Jurnal Makalah Farmasi Indonesia.*
- Uma, R.; Sivasubramanian, V. dan Devaraj, S. N. 2011. Preliminary Phycochemical Analysis and In Vitro Antibacterial Screening of Green Microalgae, *Desmococcus olivaceus*, *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*. *Journal of Algal Biomass Utilization.* Volume 2(3): 74-81.
- Van Den Hoek, dkk. 2002. *Algae: An Introduction to Phycology.* New York: Cambridge University Press.
- Volesky, G. 1970. *Algal Product.* New Delhi: In Properties of Algal (Ed) Penum Press.
- Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar, Alih Bahasa : Markham.* Jakarta: PT. Glora Aksara Pratama.
- Waluyo. 2004. *Mikrobiologi Pangan I.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wang, L., dkk. 2009. Cultivation of Green Algae *Chlorella sp.* in Different Wastewater from Municipal Waswater Treatment Plant. *Appl Biochem Biotechnol.* 162: 1174-1186.

- Watanabe, T. 1979. *Nutritional Quality of Living Feeds Used in Seed Production of Fish*. Proc, Japan-Soviet Joint. Symp Agriculture 7.
- Winarno; Fardias dan Fardias. 1973. *Ekstraksi, Kromatografi dan Elektroforesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- 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 Padjadjaran. 535-542.
- Yitnosumarto, S. 1993. *Percobaan Perancangan, Analisis, dan Interpretasinya*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Yudha, A. P. 2008. Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Dunaliella sp.* pada Umur Panen yang Berbeda. *Skripsi* Diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Zahro, I.M. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak n-Heksana Tanaman Anting-Anting (*Acalipha indica* Linn.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

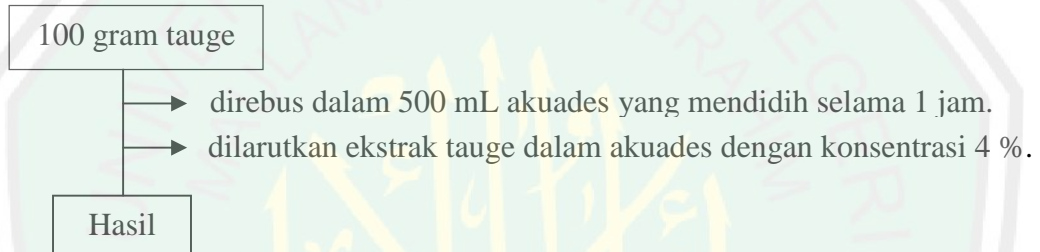


**L.1.2. Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.***

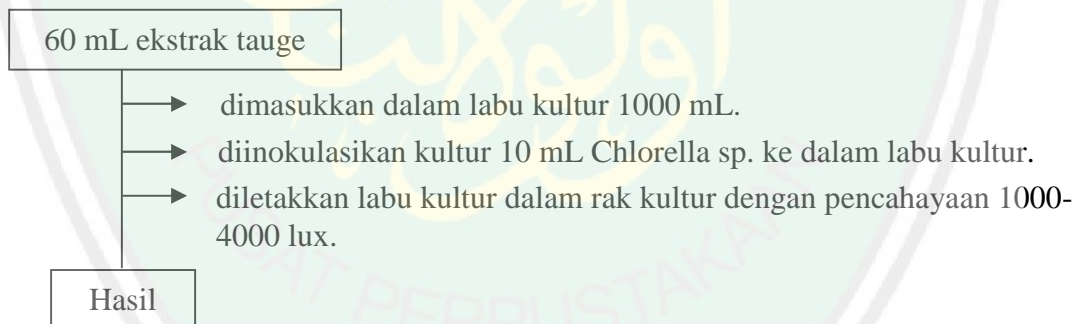
**a. Sterilisasi Alat**



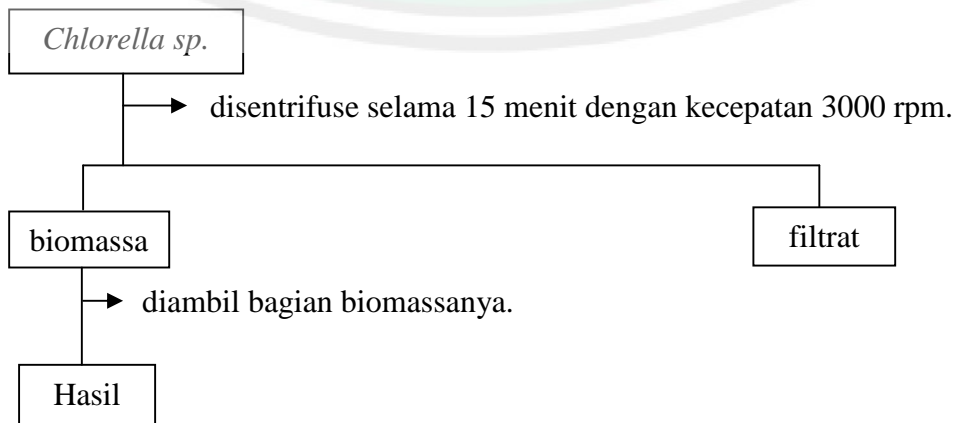
**b. Pembuatan Medium Ekstrak Tauge**



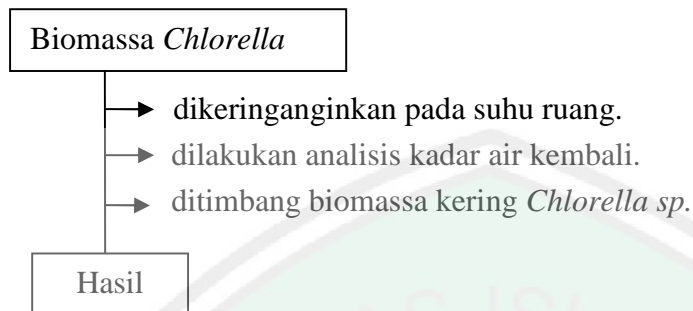
**c. Kultivasi *Chlorella sp.* dalam Medium Ekstrak Tauge**



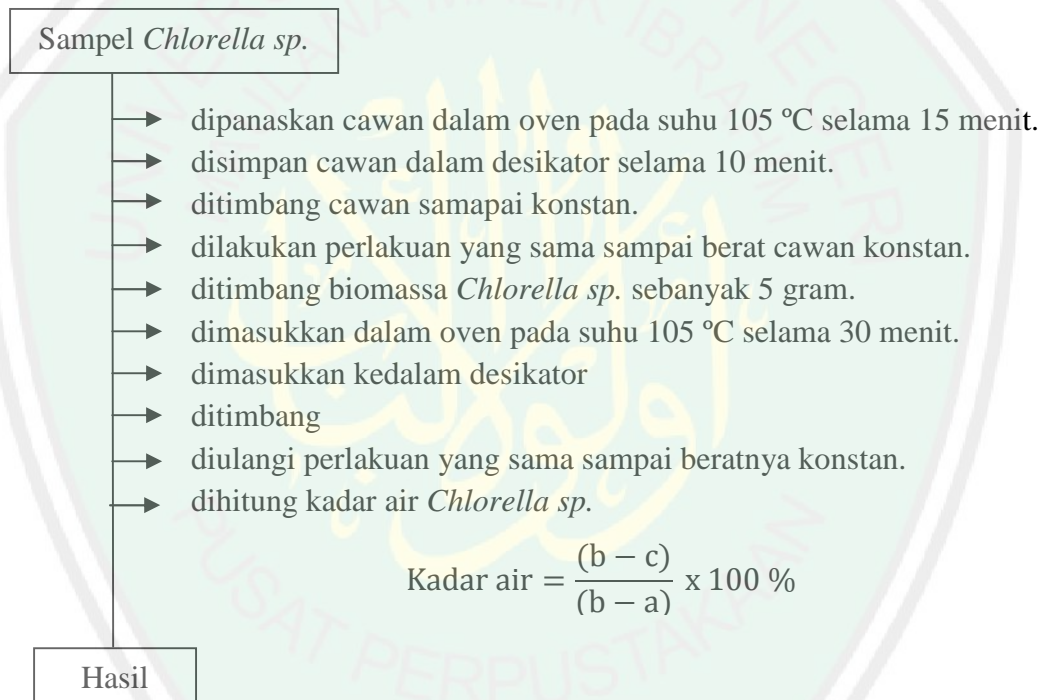
**d. Pemanenan *Chlorella sp.***



### L.1.3. Preparasi Sampel

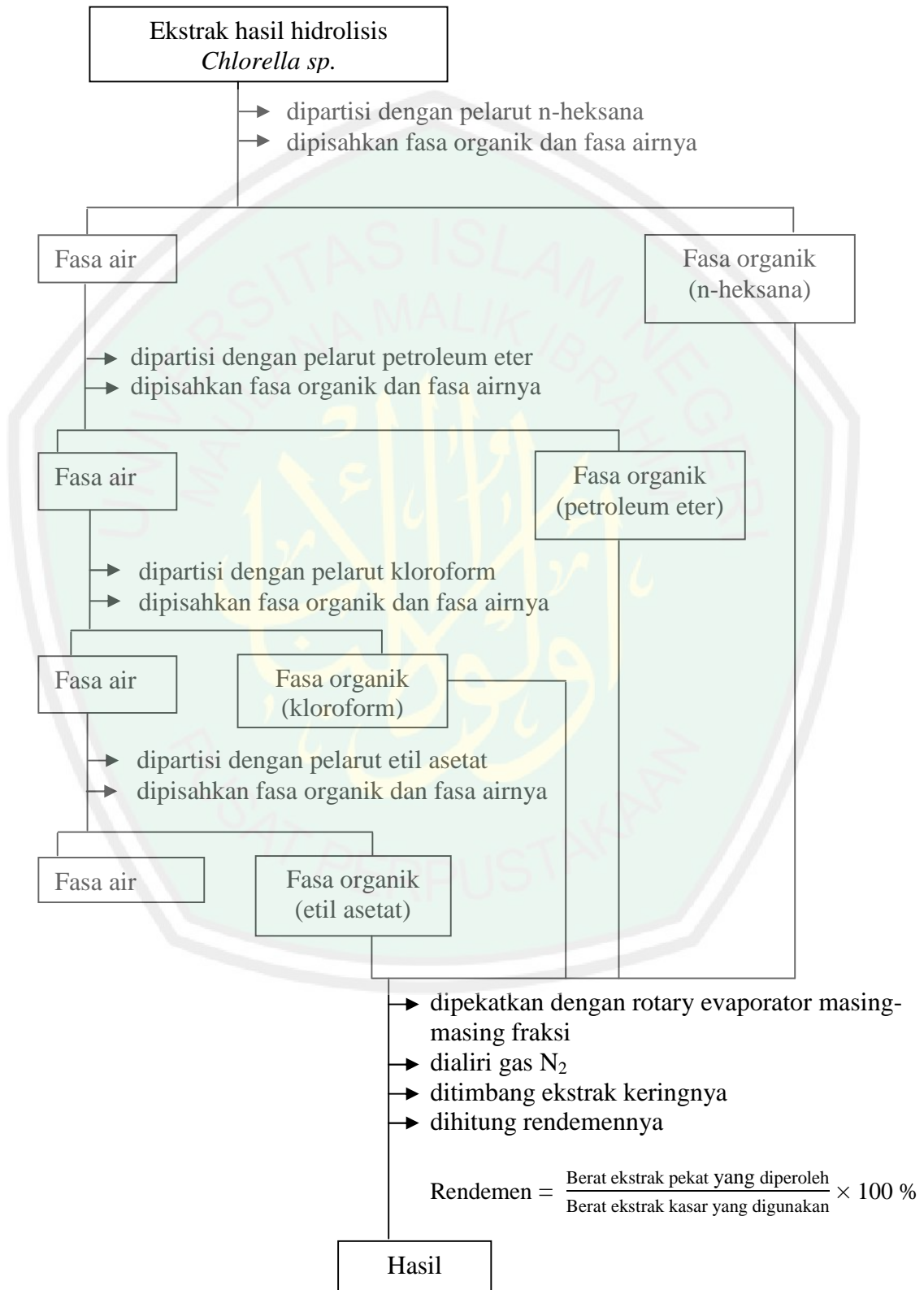


### L.1.4. Analisis Kadar Air Mikroalga *Chlorella sp.*



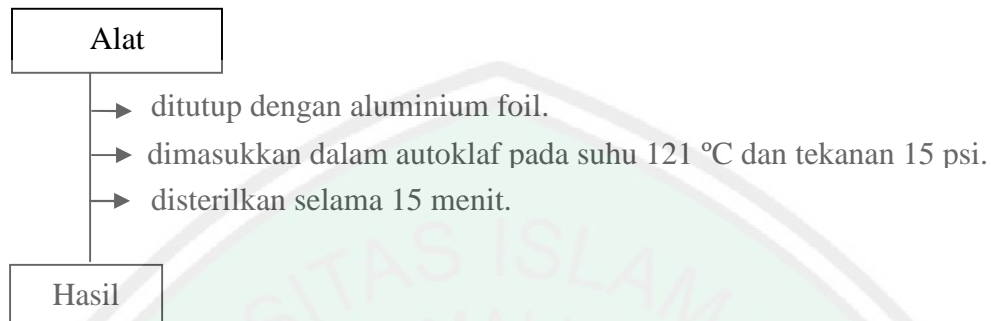


### L.1.7. Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Pekat Kering Metanol *Chlorella sp.*

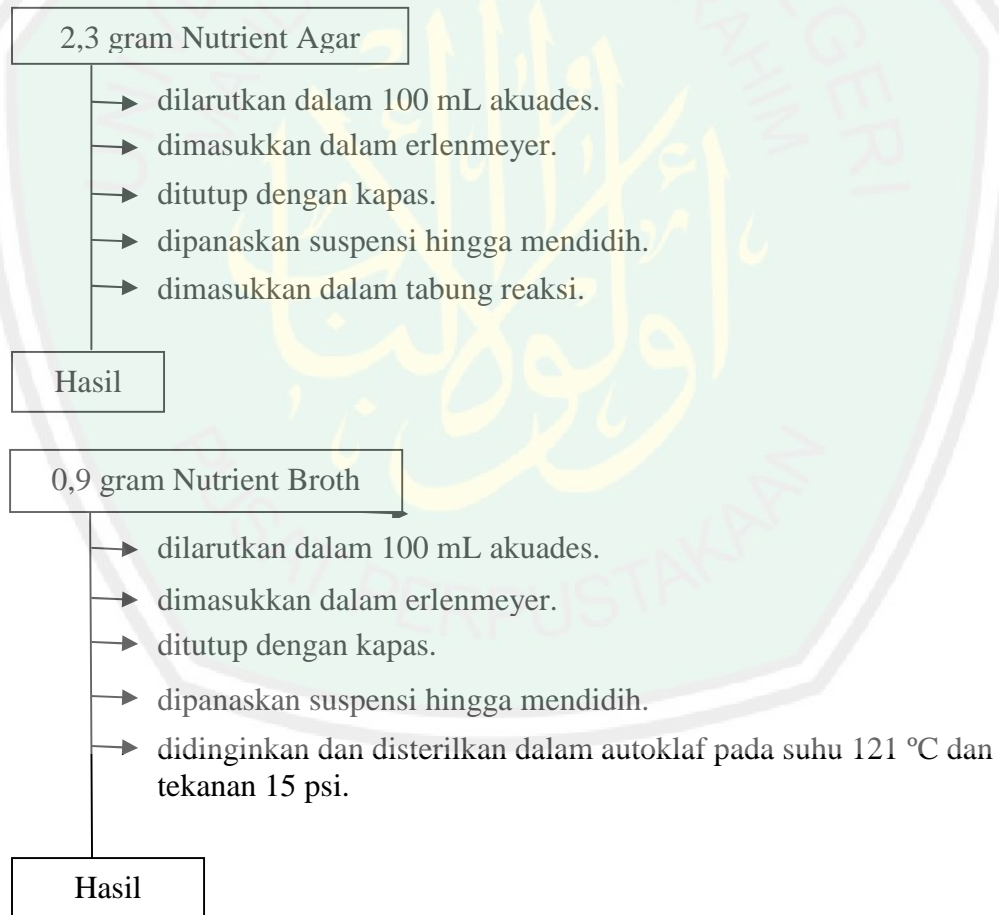


### L.1.8. Uji Aktivitas Antibakteri

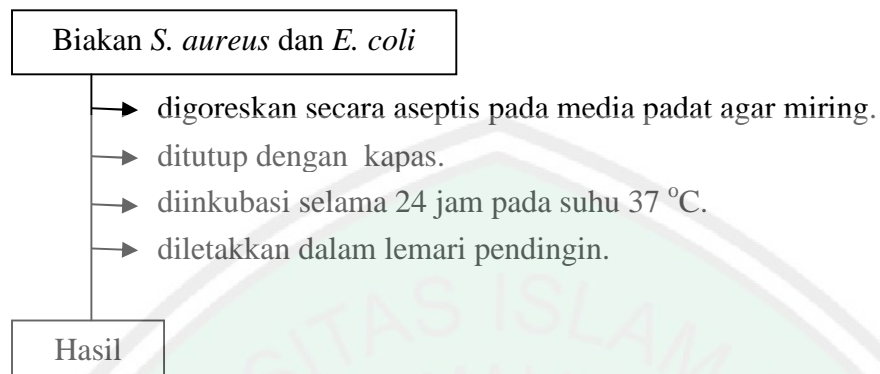
#### a. Sterilisasi Alat



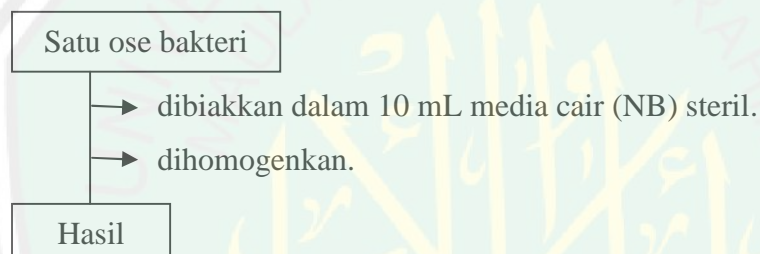
#### b. Pembuatan Media



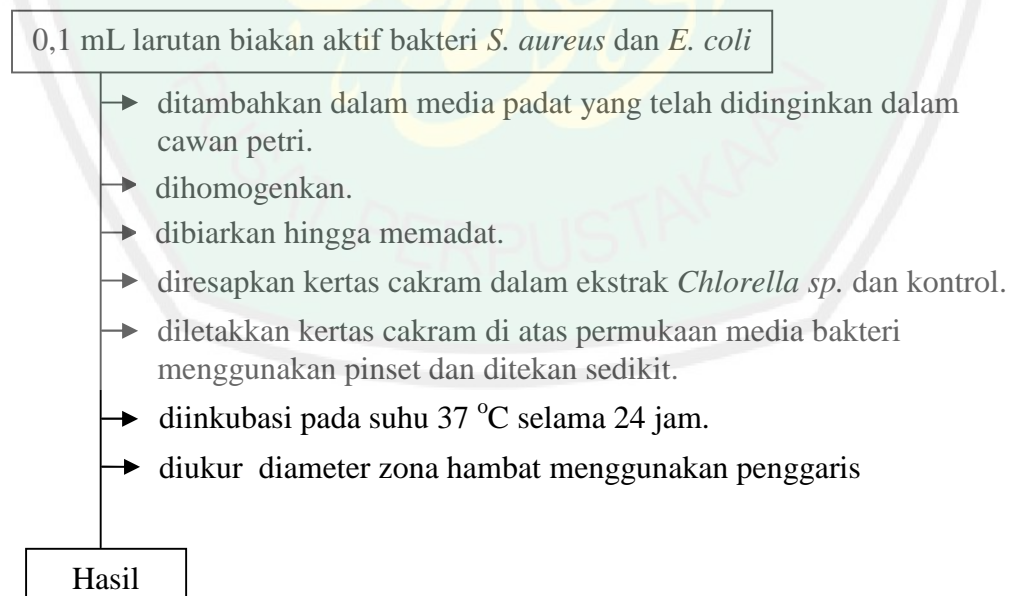
### c. Peremajaan Biakan Murni Bakteri



### d. Pembuatan Suspensi Bakteri



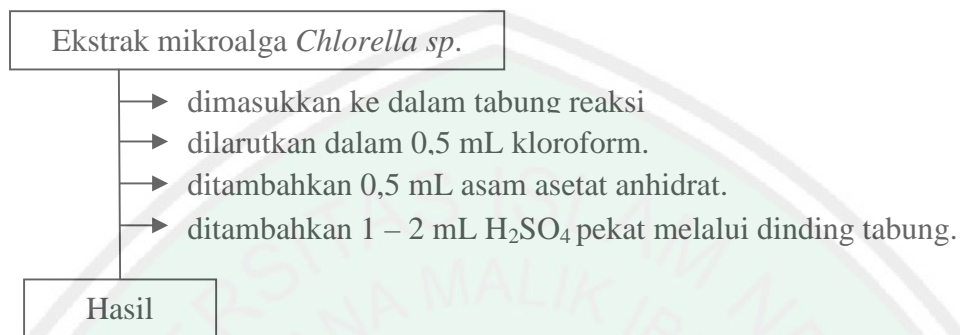
### e. Uji Aktivitas Antibakteri



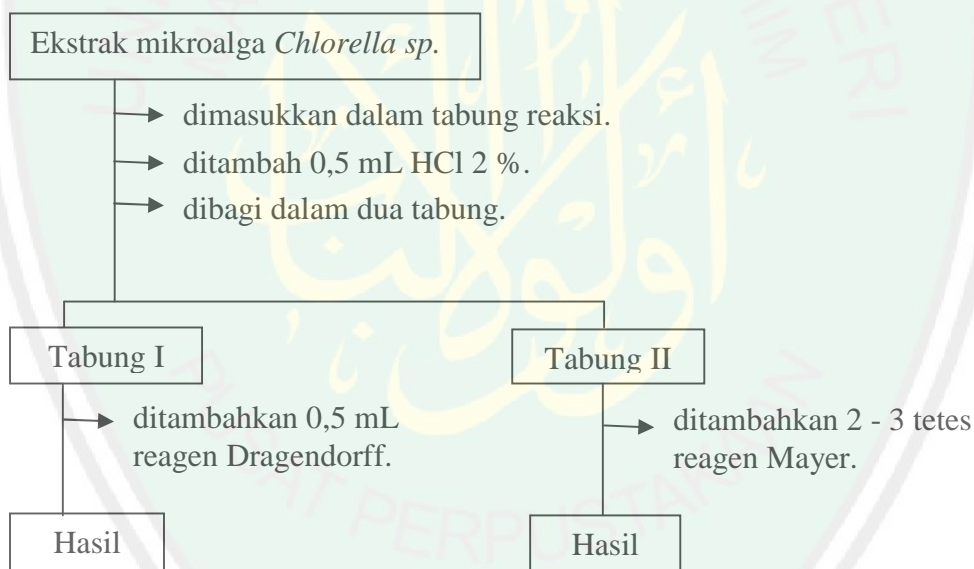
### L.1.9. Identifikasi Senyawa Aktif Mikroalga *Chlorella sp.* secara Kualitatif

#### I. Uji Reagen

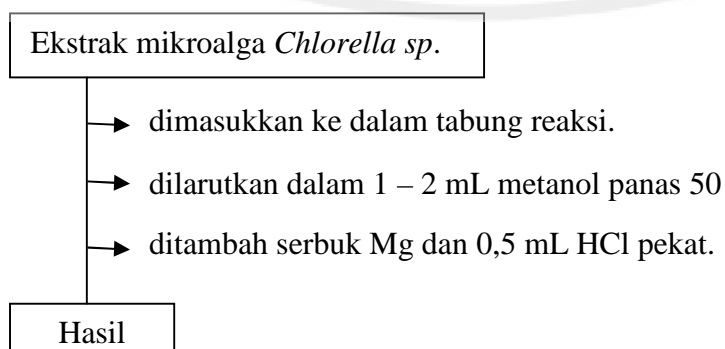
##### a. Uji Triterpenoid

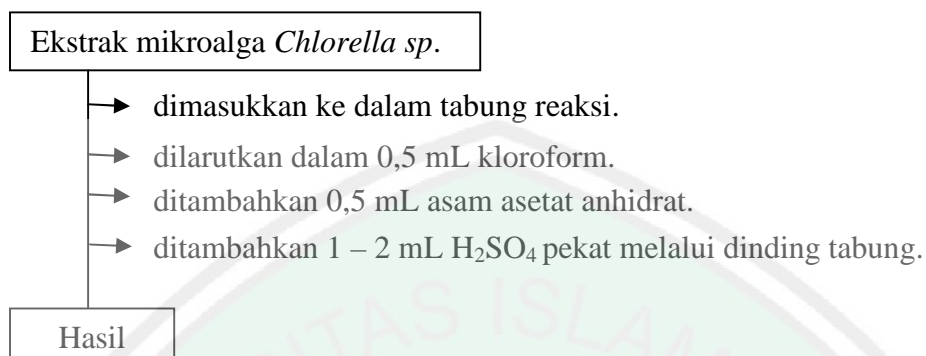
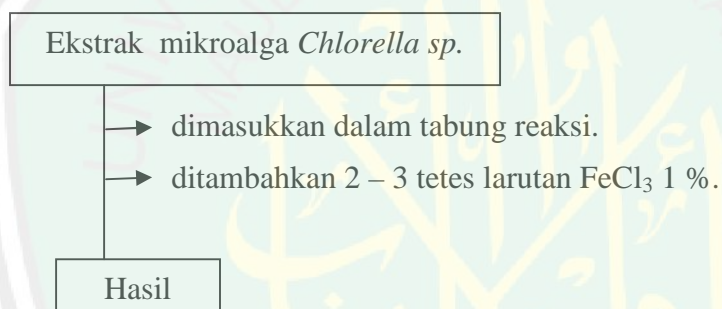
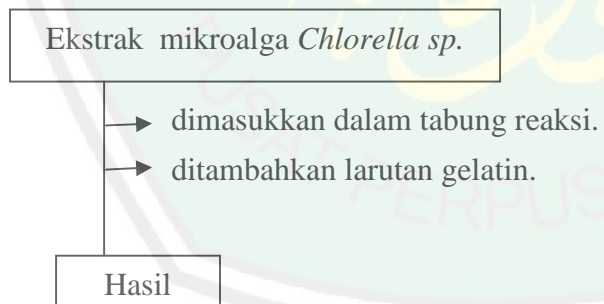


##### b. Uji Alkaloid



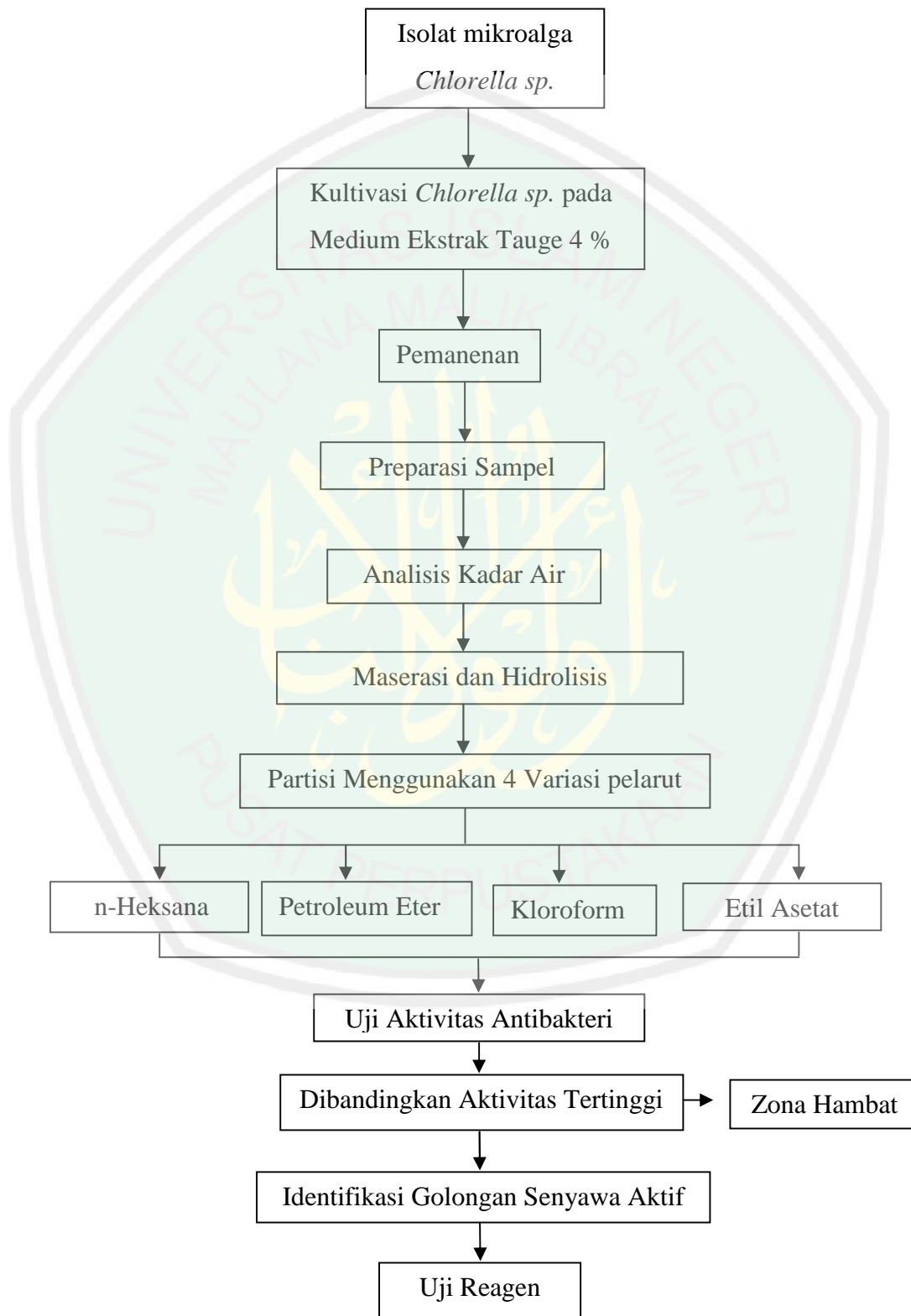
##### c. Uji Flavonoid



**d. Uji Steroid****e. Uji Tanin****• Uji dengan FeCl<sub>3</sub>****• Uji dengan Gelatin**



## LAMPIRAN

Lampiran 1: Skema Kerja  
L.1.1 Rancangan Penelitian

## Lampiran 2: Pembuatan Reagen dan Perhitungan

### L.2.1. Pembuatan Larutan HCl 2 %

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 37 \% \times V_1 &= 2 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan HCl 2 % diambil sebanyak 0,5 mL larutan HCl pekat 37 % dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL.

### L.2.2. Pembuatan Larutan Metanol 50 %

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 99,8 \% \times V_1 &= 50 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL.

### L.2.3. Pembuatan Pereaksi Mayer

- a. 1,358 g HgCl<sub>2</sub> dalam 60 ml akuades,
- b. KI 5 mg dalam 10 ml akuades.

Larutan a dituangkan ke dalam larutan b, diencerkan dengan akuades sampai 100 ml (HAM, 2006).

### L.2.4. Pembuatan Pereaksi Dragendorff

- a. 0,6 g bismutsubnitrat dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H<sub>2</sub>O. 6 g KI dalam 10 mL H<sub>2</sub>O.

Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H<sub>2</sub>O (Harborne, 1987).

**L.2.5. Pembuatan FeCl<sub>3</sub> 1%**

$$\text{BM FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4} \\ &= \frac{1\% \times 162,2 \text{ g/mol} \times 0,01 \text{ L}}{22,4} \\ &= 0,072 \text{ g} = 72 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan FeCl<sub>3</sub> 1% diambil sebanyak 72 mg serbuk FeCl<sub>3</sub> dan dilarutkan hingga volume 10 mL.

**L.2.6. Pembuatan Larutan Gelatin**

Cara pembuatan larutan gelatin adalah 2,5 g serbuk gelatin dicampur dengan 50 mL larutan garam NaCl jenuh, kemudian dipanaskan sampai gelatin larut seluruhnya. Setelah dingin, ditambahkan larutan NaCl jenuh kemudian ditandabatkan dalam labu ukur 100 mL dan dikocok hingga homogen.

**L.2.7. Pembuatan Medium Ekstrak Tauge (MET) 4%**

$$\text{Volume} = 600 \text{ mL}$$

$$\text{MET 4\%} = \frac{24 \text{ mL ekstrak tauge}}{576 \text{ mL}}$$

Cara pembuatannya yaitu ekstrak tauge sebanyak 24 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 576 mL.

**L.2.8. Pembuatan Larutan HCl 2 N**

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37 \%$$

$$\text{Berat Molekul HCl} = 36,45 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah ion H}^{\text{+}}\text{)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{37\% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}}$$

$$= \frac{37\% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N}$$

$$\begin{aligned}N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\12,09 \text{ N} \times V_1 &= 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL} \\V_1 &= 16,54 \text{ mL} = 16,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatan larutan HCl 2 N adalah dipipet larutan HCl pekat 37 % sebanyak 16,5 mL. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi  $\pm$  15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai batas dan dikocok sampai homogen.

#### L.2.9. Pembuatan Larutan NaHCO<sub>3</sub>

Sebanyak 5 gram natrium bikarbonat dilarutkan dengan aquades dalam beaker glass. Kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

#### L.2.10. Pembuatan Reagen Libermann-Burchard

- Asam sulfat pekat 5 mL
- Anhidrat asetat 5 mL
- Etanol *absolute* 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat 5 mL dan anhidrida asetat 5 mL dicampur ke dalam etanol absolut 50 mL, kemudian didinginkan dalam lemari pendingin 5 – 10 menit. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan (Wagner and Bladt, 2001).

### Lampiran 3: Perhitungan Uji Aktivitas Antibakteri

#### L.3.1. Tabel Hasil Pembuatan Kurva Standar Suspensi Bakteri

Jenis Bakteri	Panjang gelombang (nm)	OD	Jumlah Sel (CFU)
<i>E. coli</i>	600	0,01	$2,96 \times 10^8$
<i>S. aureus</i>		0,002	$2,88 \times 10^8$

#### L.3.2. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak (% b/v)

- Larutan stok :  
 $2,5 \% = 2,5 \text{ g} / 100 \text{ mL} = 0,125/5 \text{ mL}$   
 Jadi 0,125 g ekstrak dilarutkan sampai volume 5 mL.
- Konsentrasi 2 %  
 Diketahui:  $M_1 = 2,5 \% \quad V_2 = 5 \text{ mL}$   
 $M_2 = 2 \%$   
 Ditanya:  $V_2 \dots\dots?$   
 Jawab:  $M_1 V_1 = M_2 V_2$   
 $2,5 V_1 = 2 \times 5 \text{ mL}$   
 $V_1 = 10/2,5 = 4 \text{ mL}$   
 Jadi diambil 4 mL larutan stok 2,5 % dilarutkan sampai volume 5 mL.
- Konsentrasi 1,5 %  
 Diketahui:  $M_1 = 2 \% \quad V_2 = 5 \text{ mL}$   
 $M_2 = 1,5 \%$   
 Ditanya:  $V_2 \dots\dots?$   
 Jawab:  $M_1 V_1 = M_2 V_2$   
 $2 V_1 = 1,5 \times 5 \text{ mL}$   
 $V_1 = 7,5/2 = 3,75 \text{ mL}$   
 Jadi diambil 3,75 mL larutan 2 % dilarutkan sampai 5 mL.
- Konsentrasi 1 %  
 Diketahui:  $M_1 = 1,5 \% \quad V_2 = 5 \text{ mL}$   
 $M_2 = 1 \%$   
 Ditanya:  $V_2 \dots\dots?$   
 Jawab:  $M_1 V_1 = M_2 V_2$

$$1,5 V_1 = 1 \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5/1,5 = 3,33 \text{ mL}$$

Jadi diambil 3,33 mL larutan 1,5 % dilarutkan sampai volume 5 mL.

➤ **Konsentrasi 0,5 %**

Diketahui:  $M_1 = 1 \%$   $V_2 = 5 \text{ mL}$

$$M_2 = 0,5 \%$$

Ditanya:  $V_2$ .....?

Jawab:  $M_1 V_1 = M_2 V_2$

$$1 V_1 = 0,5 \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2,5/1 = 2,5 \text{ mL}$$

Jadi diambil 2,5 mL larutan 1 % dilarutkan sampai volume 5 mL

➤ **Kontrol Positif**

a. **Kontrol Positif *E. coli***

Streptomisin (0,6 %) = 0,6 g/100 mL

Jika diencerkan dalam 5 mL akuades maka:

$$0,6 \text{ g}/100 \text{ mL} = 0,0312/5 \text{ mL}$$

Jadi diambil 0,0312 g dilarutkan sampai volume 5 mL

b. **Kontrol Positif *S. aureus***

Penisilin (2,5 %) = 2,5 g/100 mL

Jika diencerkan dalam 5 mL akuades maka:

$$2,5 \text{ g}/100 \text{ mL} = 0,125 \text{ g}/5 \text{ mL}$$

Jadi diambil 0,125 g dilarutkan sampai volume 5 mL

#### Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air

##### Data Pengukuran Kadar Air Kering

Ulangan Cawan	Berat Cawan Kosong (g)				Rata-rata Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
1	57,0270	57,0257	57,0255	57,0252	57,0255
2	61,0547	61,0549	61,0550	61,0550	61,0550
3	53,8107	53,8109	53,8108	53,8108	53,8108

Ulangan Sampel	Berat Cawan + Sampel (g)						Rata-rata Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
1	58,0249	57,9601	57,9523	57,9495	57,9469	57,9458	57,9509
2	62,0548	61,9951	61,9867	61,9829	61,9810	61,9799	61,9851
3	54,8109	54,7599	54,7568	54,7329	54,7327	54,7324	54,7429

Keterangan: P= perlakuan

$$\text{Kadar air} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$$

Keterangan : a = Berat konstan cawan kosong

b = Berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = Berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

Perhitungan kadar air terkoreksi menggunakan persamaan:

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

1. Kadar air ulangan ke-1

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \% \\ &= \frac{(58,0249 - 57,9509)}{(58,0249 - 57,0255)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,074}{0,999} \times 100 \% \\ &= 0,074 \times 100 \% \\ &= 7,41 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Faktor Koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 7,41\%} \\ &= \frac{100}{92,59\%} = 1,0800\%\end{aligned}$$

2. Kadar air ulangan ke-2

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100\% \\ &= \frac{(62,0548 - 61,9851)}{(62,0548 - 61,0550)} \times 100\% \\ &= \frac{0,0697}{0,9998} \times 100\% \\ &= 0,0697 \times 100\% \\ &= 6,97\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Faktor Koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\ &= \frac{100}{100\% - 6,97\%} \\ &= \frac{100}{93,03\%} \\ &= 1,0749\%\end{aligned}$$

3. Kadar air ulangan ke-3

$$\begin{aligned}\text{Kadar air} &= \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100\% \\ &= \frac{(54,8109 - 54,7429)}{(54,8109 - 53,8108)} \times 100\% \\ &= \frac{0,068}{1,0001} \times 100\% \\ &= 0,0679 \times 100\% \\ &= 6,79\%\end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 6,79\%} \\
 &= \frac{100}{93,21\%} \\
 &= 1,0728\%
 \end{aligned}$$

Kadar air pada sampel mikroalga *Chlorella sp.* adalah:

P1(%)	P2 (%)	P3 (%)	Total (%)	Rata-rata (%)
7,41	6,97	6,79	21,17	7,05

## Lampiran 5 Perhitungan Rendemen

### L.5.1 Perhitungan Rendemen Hasil Pengeringan

#### ➤ Pemanenan

No.	Berat botol kosong (g)	Berat botol + <i>Chlorella sp.</i> basah (g)	Berat <i>Chlorella sp.</i> basah (g)	Berat <i>Chlorella sp.</i> kering (g)
1.	148,97	210,94	61,97	13,0280
2.	101,53	176,98	75,45	
3.	100,38	178,96	78,58	
4.	88,24	191,60	103,36	
5.	85,59	189,43	103,87	
6.	156,57	199,66	43,34	
Total			466,57	

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100 \% \\
 &= \frac{13,0280 \text{ g}}{466,57 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 0,0279 \times 100 \% \\
 &= 2,79 \%
 \end{aligned}$$

### L.5.2 Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi

#### ➤ Maserasi

Berat sampel (g)	Berat wadah (g)	Berat wadah + ekstrak pekat (g)	Berat ekstrak pekat (g)
12,0129	89,6355	91,2066	1,5711

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,5711}{12,0129} \times 100 \% \\
 &= 0,1307 \times 100 \% \\
 &= 13,07 \%
 \end{aligned}$$

### L.5.3 Perhitungan Rendemen Hasil Partisi

#### ➤ Partisi fraksi n-Heksana

Berat ekstrak metanol yang dihidrolisis (g)	Berat wadah (g)	Berat wadah + ekstrak n-heksana (g)	Berat ekstrak pekat n-heksana (g)
1,4001	94,2460	94,8740	0,6280

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,6280}{1,4001} \times 100 \% \\
 &= 0,4485 \times 100 \% \\
 &= 44,85 \%
 \end{aligned}$$

#### ➤ Partisi fraksi petroleum eter

Berat ekstrak metanol yang dihidrolisis (g)	Berat wadah (g)	Berat wadah + ekstrak PE (g)	Berat ekstrak pekat PE (g)
1,4001	90,6715	90,8173	0,1458

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,1458}{1,4001} \times 100 \% \\
 &= 0,1041 \times 100 \% \\
 &= 10,41 \%
 \end{aligned}$$

#### ➤ Partisi fraksi kloroform

Berat ekstrak metanol yang dihidrolisis (g)	Berat wadah (g)	Berat wadah + ekstrak kloroform (g)	Berat ekstrak pekat kloroform (g)
1,4001	73,9605	74,0997	0,1392

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,1392}{1,4001} \times 100 \% \\
 &= 0,0994 \times 100 \% \\
 &= 9,94 \%
 \end{aligned}$$

➤ **Partisi fraksi etil asetat**

Berat ekstrak metanol yang dihidrolisis (g)	Berat wadah (g)	Berat wadah + ekstrak etil asetat (g)	Berat ekstrak pekat etil asetat (g)
1,4001	88,1522	88,2796	0,1274

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,1274}{1,4001} \times 100 \% \\
 &= 0,0909 \times 100 \% \\
 &= 9,09 \%
 \end{aligned}$$

➤ **Partisi fraksi fasa air**

Berat ekstrak metanol yang dihidrolisis (g)	Berat wadah (g)	Berat wadah + ekstrak fasa air (g)	Berat ekstrak fasa air (g)
1,4001	83,7655	83,9291	0,1636

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\
 &= \frac{0,1636}{1,4001} \times 100 \% \\
 &= 0,1168 \times 100 \% \\
 &= 11,68 \%
 \end{aligned}$$

## Lampiran 6 Data Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Statistik

### A. Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *E. coli*

#### 1. Ekstrak Metanol, n-Heksana, Petroleum Eter, Kloroform, dan Etil Asetat

Mikroalga *Chlorella sp.*

Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
	<i>E. coli</i>				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0,5 %	0	0	0	0	0
1 %	0	0	0	0	0
1,5 %	0	0	0	0	0
2 %	0	0	0	0	0
2,5 %	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	

### B. Aktivitas antibakteri terhadap Bakteri *S. aureus*

#### 1. Ekstrak Metanol *Chlorella sp.*

Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
	<i>S. aureus</i>				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0,5 %	0	0	0	0	0
1 %	0	0	0	0	0
1,5 %	0	0	0	0	0
2 %	0	0	0	0	0
2,5 %	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	

## 2. Ekstrak n-Heksana *Chlorella sp.*

Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
	<i>S. aureus</i>				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0,5 %	1	0	0	1	0,3
1 %	2,5	2	2,5	7	2,3
1,5 %	3	3	4	10	3,3
2 %	4	4	5	13	4,3
2,5 %	5	5	5,5	15,5	5,2
Total	15,5	14	17	46,5	

## 3. Ekstrak Petroleum Eter *Chlorella sp.*

Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
	<i>S. aureus</i>				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0,5 %	3	2,5	8	13,5	4,5
1 %	5	3	8,5	16,5	5,5
1,5 %	7,5	7,5	9	24	8
2 %	8	9	10,5	27,5	9,2
2,5 %	9	10	11	30	10
Total	32,5	32	47	111,5	

## 4. Ekstrak Kloroform *Chlorella sp.*

Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
	<i>S. aureus</i>				
	Ulangan 1	Ulangan 2			
0,5 %	1	1	1	3	1
1 %	1,5	1	1,3	3,8	1,3
1,5 %	2	1	1,8	4,8	1,8
2 %	2,5	2	2,3	6,8	2,3
2,5 %	2,5	2	2,3	6,8	2,3
Total	9,5	7	10	25,2	

### 5. Ekstrak Etil Asetat *Chlorella sp.*

Konsentrasi (% b/v)	Zona Hambat (mm)			Total	Rata-rata
	<i>S. aureus</i>				
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0,5 %	0	1	1	2	0,6
1 %	1	2	2	5	1,6
1,5 %	2	2,5	3,5	8	2,6
2 %	4	3	4	11	3,6
2,5 %	5	4	5	14	4,6
Total	12	12,5	15,5	40	

#### C. Data Uji Statistik

$$FK = (\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^r Y_{ij})^2 / pr$$

$$= (0+0,3+4,5+\dots+2,3+4,6)^2 / 25 = 220,8196$$

$$JK_{\text{perlakuan}} = \sum_{i=1}^p (\sum_{j=1}^r Y_{ij}^2) / r - FK$$

$$= (6,4^2 + 10,7^2 + \dots + 22,1^2) / 5 - (220,8196) = 32,5224$$

$$JK_{\text{kelompok}} = \sum_{j=1}^r (\sum_{i=1}^p Y_{ij}^2) / p - FK$$

$$= (0^2 + 15,4^2 + \dots + 13^2) / 5 - (220,8196) = 152,3184$$

$$JK_{\text{total}} = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - FK$$

$$= (0^2 + 0,3^2 + \dots + 2,3^2 + 4,6^2) - (220,8196) = 200,4304$$

$$JK_{\text{galat}} = JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}} - JK_{\text{kelompok}}$$

$$= 200,4304 - 32,5224 - 152,3184 = 15,5896$$

Tabel Analisis Ragam Dua Arah (Two Way Anova)

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F	
				Hitung	Tabel 5 %
Perlakuan	4	32,5224	8,1306	8,3446	3.007
Kelompok	4	152,3184	38,0796	39,0821	3.007
Galat	16	15,5896	0,9744		
Total	24	200,4304			

Berdasarkan data diatas, hasil dari analisis perlakuan nilai  $F_{hitung} (8,3446) > F_{tabel} (3,007)$  maka  $H_0$  ditolak, yang artinya perlakuan (variasi konsentrasi) berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Sedangkan untuk analisis kelompok nilai  $F_{hitung} (39,0821) > F_{tabel} (3,007)$  maka  $H_0$  ditolak, yang artinya kelompok (variasi pelarut) berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Karena itu, selanjutnya dilakukan pengujian BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perlakuan mana yang berpengaruh. Nilai  $BNT_{5\%}$  perlakuan adalah 1,323 dan  $BNT_{5\%}$  kelompok adalah 1,323. Untuk mencari nilai  $BNT_{5\%}$  perlakuan dan kelompok secara manual adalah:

$$BNT_{5\%} = t_{(u/2,16)} * S_{\bar{d}}$$

$$S_{\bar{d}} = \sqrt{\frac{2 * KT_G}{n}} = \sqrt{\frac{2 * 0,9744}{5}} = 0,1949$$

Nilai t tabel ( $t_{(0,025,16)}$ ) yaitu 2.120

$$BNT_{5\%} = 2,120 * 0,1949 = 1,323$$

Tabel Pemberian Notasi untuk Variasi Konsentrasi

Perlakuan (konsentrasi)	Rata-rata (dari kecil ke besar)	Notasi
0.5	1,28	a
1	2,14	a
1.5	3,14	b
2	3,88	b
2.5	4,42	b

Tabel Pemberian Notasi untuk Variasi Pelarut

Kelompok (Variasi pelarut)	Rata-rata (dari kecil ke besar)	Notasi
Metanol	0	a
Kloroform	1,74	a
Etil asetat	2,6	b c
n-Heksana	3,08	c
Petroleum eter	7,44	d



Jika dibandingkan dengan nilai  $BNT_{5\%}$  dengan selisih rata-rata antara 2, Jika selisih rata-rata  $< BNT_{5\%}$  berarti tidak nyata, jika selisih rata-rata  $> BNT_{5\%}$  berarti nyata. Berdasarkan hasil analisis tersebut, konsentrasi yang paling baik dan yang disarankan untuk dipakai adalah konsentrasi 2,5 %, sedangkan pelarut yang paling baik dan yang disarankan untuk dipakai lagi adalah petroleum eter.

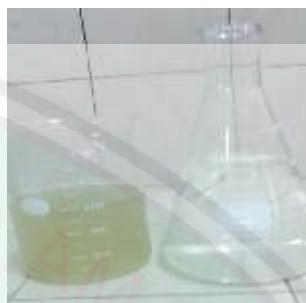


**Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian**

**L.8.1 Pembuatan Medium Ekstrak Tauge 4 %**



Perebusan Tauge



Medium Ekstrak Tauge (MET)

**L.8.2 Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.* dalam MET 4 %**



Kultivasi Mikroalga *Chlorella sp.*



Hari ke-1 Hari ke-3 Hari ke-5 Hari ke-7 Hari ke-9 Hari ke-10

**L.8.3 Pemanenan Biomassa Mikroalga *Chlorella sp.***

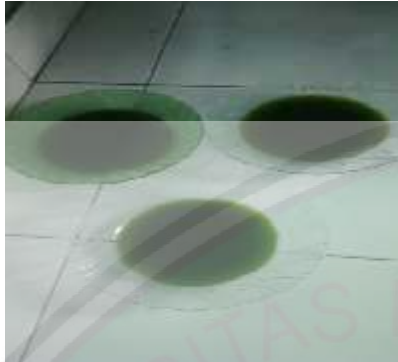


Proses sentrifus

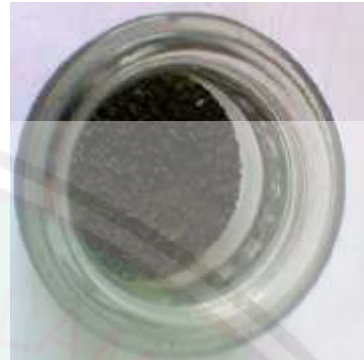


Pengambilan biomassa *Chlorella sp.*

#### L.8.4 Preparasi Biomassa Mikroalga *Chlorella sp.*

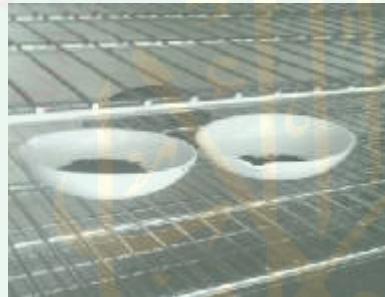


Pengeringan dengan Kipas Angin

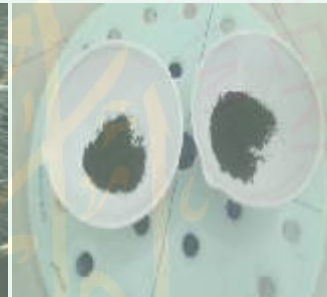


Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Pengeringan dan Pengerokan

#### L.8.5 Analisis Kadar Air Biomassa Mikroalga *Chlorella sp.*



Pengovenan sampel



Sampel dalam desikator

#### L.8.2 Ekstraksi

##### L.8.2.1 Ekstraksi Maserasi



Pengadukan Menggunakan *Shaker*



Penyaringan dengan Corong *Buchner*



Pemekatan ekstrak dengan *Rotary Evaporator Vacum*



Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.*

### L.8.2.2 Ekstraksi Cair-cair

#### L.8.2.2.1 Partisi Ekstrak Kasar Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* dengan Pelarut n-Heksan dan Petroleum Eter



Partisi:

Lapisan atas: Fraksi n-heksana  
Lapisan bawah: Fasa air



Partisi:

Lapisan atas: Fraksi petroleum eter  
Lapisan bawah: Fasa air

#### L.8.2.2.2 Partisi Ekstrak Kasar Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* dengan Pelarut Kloroform dan Etil Asetat



Partisi:

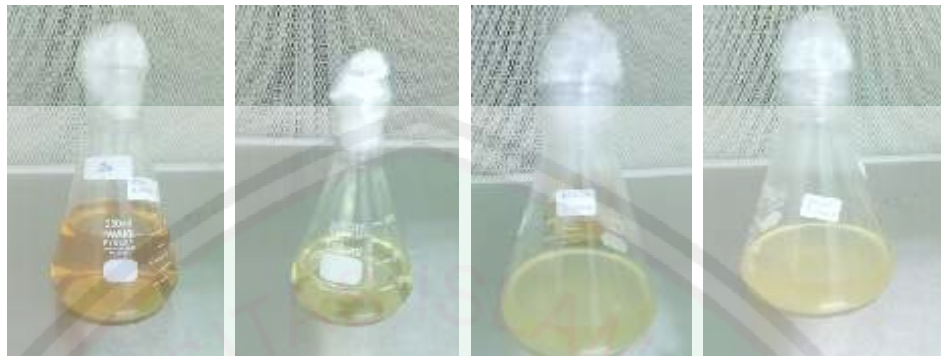
Lapisan atas : Fraksi kloroform  
Lapisan bawah : Fraksi Air



Partisi:

Lapisan atas : Fraksi Air  
Lapisan bawah : Fraksi etil asetat

### L.8.3 Uji Aktivitas Antibakteri



Media NA

Media NB

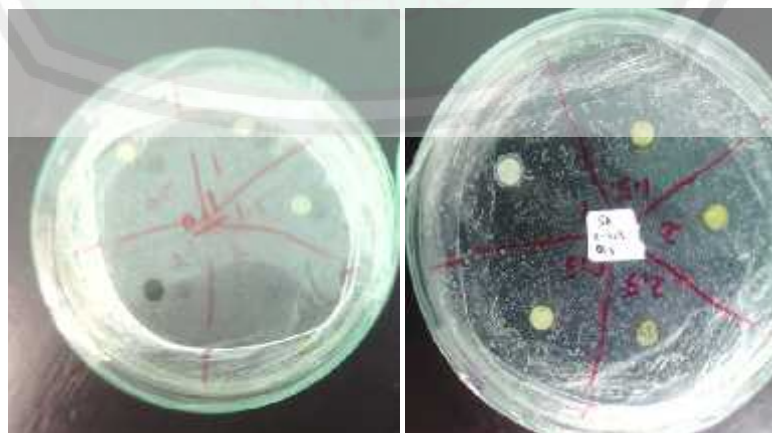
Inokulum *S. aureus*Inokulum *E. coli*

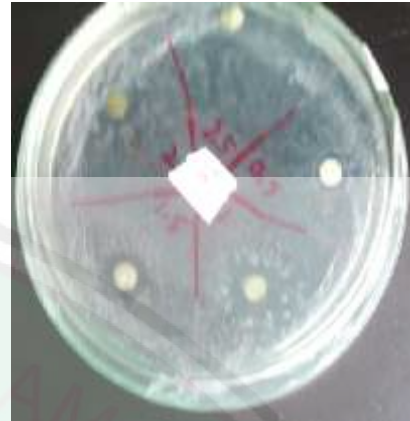
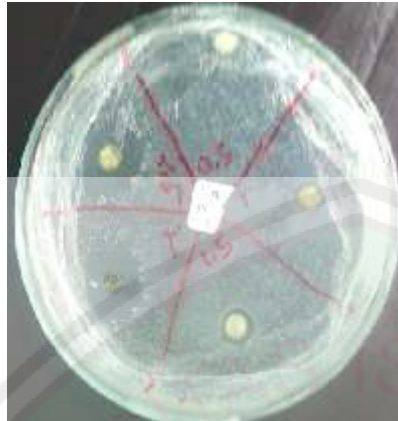
Peremajaan Bakteri



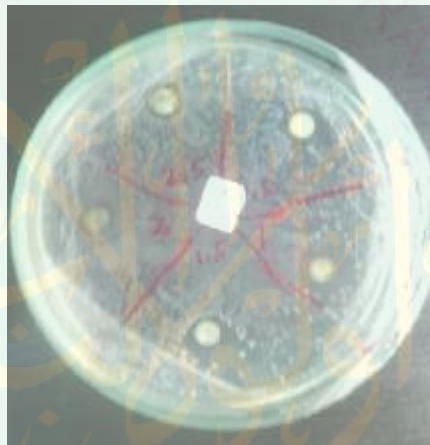
Larutan Biakan Aktif

#### L.8.3.1 Hasil Zona Hambat Bakteri *S. aureus*

Ekstrak Metanol *Chlorella sp.*Ekstrak n-Heksana *Chlorella sp.*

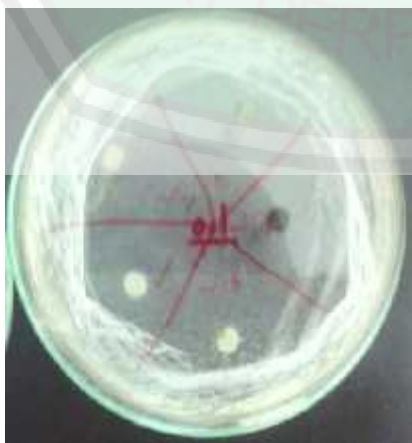


Ekstrak Petroleum Eter *Chlorella sp.*      Ekstrak Kloroform *Chlorella sp.*



Ekstrak Etil Asetat *Chlorella sp.*

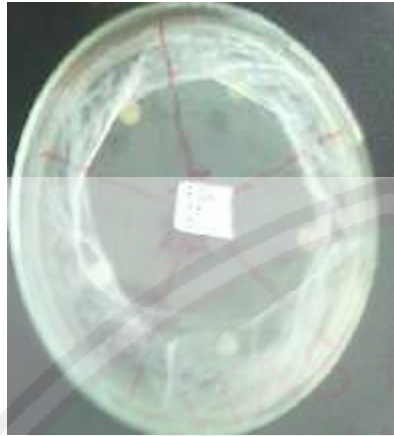
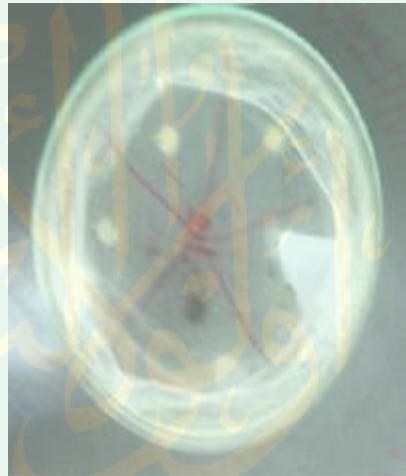
#### L.8.3.2 Hasil Zona Hambat Bakteri *E. coli*



Ekstrak Metanol *Chlorella sp.*



Ekstrak n-Heksana *Chlorella sp.*

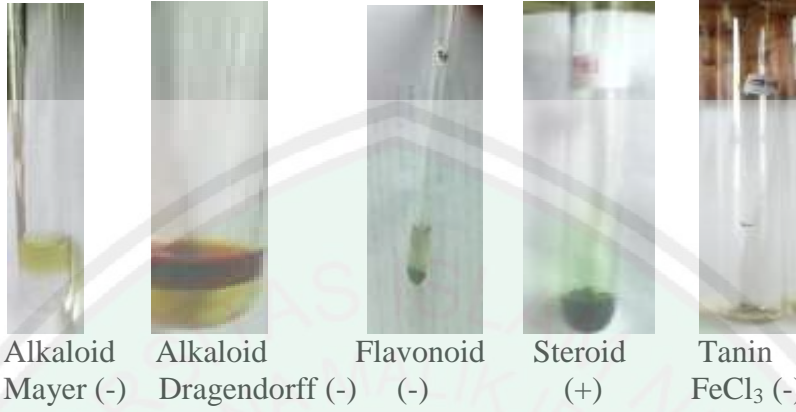
Ekstrak Petroleum Eter *Chlorella sp.*Ekstrak Kloroform *Chlorella sp.*Ekstrak Etil Asetat *Chlorella sp.*

#### L.8.4 Uji Reagen

##### L.8.4.1 Ekstrak Metanol

Alkaloid  
Dragendorff (-)Alkaloid  
Mayer (-)Steroid  
(+)Flavonoid  
(-)Tanin  
FeCl<sub>3</sub> (-)

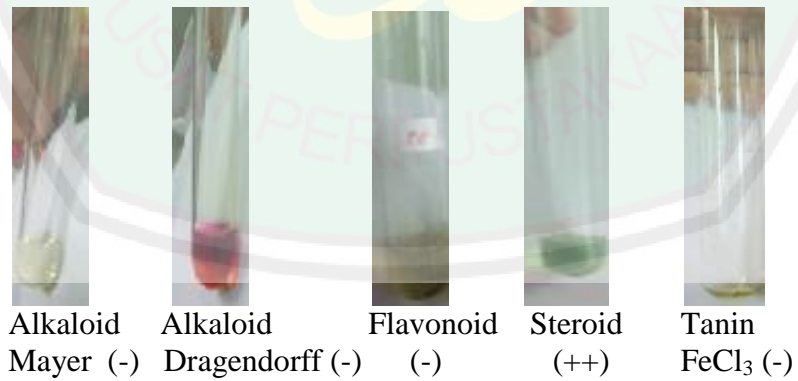
#### L.8.4.2 Ekstrak Etil Asetat



#### L.8.4.3 Ekstrak Kloroform



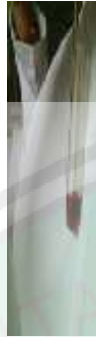
#### L.8.4.4 Ekstrak Petroleum Eter





**L.8.4.5 Ekstrak n-heksana**

Alkaloid  
Mayer (-)



Alkaloid  
Dragendorff (-)



Flavonoid  
(-)



Steroid  
(++)



Tanin  
FeCl<sub>3</sub> (-)

