Jurnal Farmasetis Volume 9 No 2, November 2020, Hal 101 – 106 p-ISSN 2252-9721
LPPM Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Kendal e-ISSN 2549-8126

UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL RUMPUT LAUT TERHADAP *PROPIONIBACTERIUM ACNES* DAN *ASPERGILLUS NIGER*

Rosario Trijuliamos Manalu, Teodhora*, Elva Asrida Sipayung
Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jalan Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, Jakarta, Indonesia 12630
*c.teodhora@istn.ac.id

ABSTRAK

Rumput laut merupakan salah satu jenis alga merah penghasil agar. Agar banyak digunakan sebagai makanan, obat-obatan, kosmetik, kertas, dan tekstil. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol 96% rumput laut terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Aspergillus niger*. Rumput laut diperoleh dari Pantai Ekas, Lombok Timur dan dimaserasi selama 48 jam dengan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan uji aktivitas antimikroba dengan metode difusi padat untuk mengukur diameter daya hambat dan metode dilusi padat untuk menentukan konsentrasi hambat minimum. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% rumput laut dapat menghambat bakteri *propionibacterium acnes* pada konsentrasi 25% sebesar 9,16 mm, 50% sebesar 10,32 mm, 75% sebesar 10,79 mm dan 100% sebesar 12,10 mm. Pada *Aspergillus niger* menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% rumput laut tidak memiliki aktivitas antimikroba pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

Kata kunci: antimikroba; *aspergillus niger*; *propionibacterium acnes*; rumput laut

ANTIMICROBIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF GRACILARIA VERRUCOSA AGAINST PROPIONIBACTERIUM ACNES AND ASPERGILLUS NIGER

ABSTRACT

Gracilaria verrucosa is one type of Rhodophyta which produces gelatine. Gelatine is used as in the food, medicine, cosmetics, paper and textile industries. The study aimed to determine the antimicrobial activity of 96% ethanol extract of Gracilaria verrucosa against Propionibacterium acnes and Aspergillus niger. Seaweed was obtained from Ekas Beach, East Lombok and macerated for 48 hours with 96% ethanol. Then the antimicrobial activity test was carried out by the solid diffusion method to measure the diameter of the inhibition and the solid dilution method to determine the minimum inhibitory concentration. The results showed that 96% ethanol extract of Gracilaria verrucosa can inhibit the bacteria Propionibacterium acnes at a concentration of 25% at 9.16 mm, 50% at 10.32 mm, 75% at 10.79 mm and 100% at 12.10 mm. Aspergillus niger shows that 96% ethanol extract of Gracilaria verrucosa does not have antimicrobial activity at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%.

Keywords: gracilaria verrucosa; antimicrobial; *propionibacterium acnes; aspergillus niger*

PENDAHULUAN

Biota laut dalam beberapa tahun terakhir ini menjadi target pencarian bahan obat. Salah satu biota laut yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah rumput laut. Rumput laut merupakan salah satu komoditas unggulan dalam industri makanan, farmasi, dan kosmetik (Nasmia, Syahir, Eka, 2016). Pemanfaatan rumput laut dikembangkan dalam mengatasi berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri, virus maupun jamur patogen. Kandungan metabolit sekunder rumput laut memiliki daya penghambatan dan pembunuh mikroorganisme patogen. Senyawa bioaktif dari rumput laut merupakan sumber antimikroba baru yang diperoleh dari alam (Dellattre, 2005). Salah satu mikroba patogen yang dapat menyebabkan penyakit adalah *Propionibacterium acnes* dan *Aspergillus niger*.

Propionibacterium acnes merupakan bakteri Gram positif, pleomorfik, bersifat anaerob aerotoleran dan termasuk bakteri flora normal pada kulit. Bakteri ini berperan dalam pembentukan akne dengan menghasilkan lipase yang dapat memecah asam lemak bebas dari lipid kulit yang menyebabkan peradangan. Akibat peradangan tersebut menyebabkan *Propionibacterium acnes* berproliferasi dan memperparah lesi inflamasi dengan merangsang produksi sitokin proinflamasi (Brooks *et al*, 2008).

Aspergillus niger adalah salah satu jamur yang dapat ditemukan dimana-mana di alam ini, tumbuh sebagai saprofit pada tumbuh-tumbuhan yang membusuk, dapat pula pada debu organik, tanah dan makanan. *Aspergillus niger* dapat menyebabkan penyakit aspergilosis yang disebut juga *Brooder Pneumonia*, *mycotic pneumonia* atau *pneumomycosis*, sering juga disebut penyakit sistem pernapasan (Uswatun, 2017). Peningkatan pemanfaatan potensi rumput laut, maka pengolahan rumput laut sebagai antimikroba merupakan hal yang perlu dioptimalkan. Jenis penelitian yang digunakan adalah ekperimental yaitu menggunakan ekstrak etanol dari rumput laut (*Gracilaria verrucosa*), kemudian ekstrak dilakukan pengujian aktivitas antimikroba terhadap *Propionibacterium acnes*, dan *Aspergillus niger*. Adapun larutan ekstrak yang digunakan adalah dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%.

METODE

Ekstraksi Rumput Laut

Rumput laut jenis *Gracilaria verrucosa* diperoleh dari Pantai Ekas, Lombok Timur, sampel yang digunakan sebanyak 5 kg lalu dikeringkan di bawah panas matahari selama ± 4 hari dengan pengawasan pada suhu yang stabil. Sampel yang telah kering (simplisia) dipotong-potong kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia. Serbuk sebanyak 5 kg dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:5 selama 2 hari. Maserasi berfungsi untuk menyerap senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam simplisia. Setelah 2 hari, larutan disaring menggunakan kertas saring dan dievaporasi menggunakan *Rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

1. Identifikasi Alkaloid

Menambahkan 20 mL kloroform dan 5mL amoniak 25 % hingga massa terendam. Panaskan dan saring dan tambahkan 1 ml asam klorida 2N, kemudian dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan jernih yang terbentuk dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi dengan jumlah yang sama, kemudian ditambahkan pereaksi *Mayer*, pereaksi *Dragendorf* dan pereaksi *Bouchardat*. Terdapatnya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi *Mayer*, endapan cokelat hitam pada pereaksi *Bouchardat* dan endapan merah pada pereaksi *Dragendorf* (Fitria, 2019).

2. Identifikasi Flavonoid

Menambahkan 1 ml larutan natrium nitrit 5% dan 1 ml aluminium klorida 10%, dikocok kemudian ditambahkan 2 ml natrium hidroksida 1N. Jika positif mengandung flavonoid warna akan berubah menjadi merah atau jingga (Fitria, 2019).

3. Identifikasi Saponin

Menambahkan sampel dengan air panas kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil, kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N menunjukkan adanya saponin (Fitria, 2019).

4. Identifikasi Tanin

Menambahkan larutan $FeCl_3$ 1%. Jika terbentuk warna hitam kebiruan sampai hijau menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak mengandung tanin (Fitria, 2019).

5. Identifikasi Steroid / terpenoid

Menambahkan 20 ml eter dan didiamkan selama 2 jam. Kemudian disaring dan diuapkan dalam cawan penguap hingga diperoleh residu, lalu residu ditambahkan 2 tetes asetat anhidrat dan 2 ml kloroform, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan perlahan-lahan 1 ml H_2SO_4 pekat (*Lieberman- Burchard*) melalui dinding tabung. Jika terbentuk cincin warna ungu menunjukkan adanya kandungan terpenoid, sedangkan terbentuk warna hijau menunjukan adanya steroid (Fitria, 2019).

Pembuatan Media MHA dan PDA

Bubuk MHA dan PDA dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan menambahkan aquades. Kemudian dipanaskan hingga mendidih di atas *hot plate* sambil dihomogenkan dengan menggunakan magnetic stirer. Setelah itu medium di sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas antimikroba dilakukan terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Aspergillus niger*. Pengujian antimikroba dilakukan dengan metode difusi padat dan dilusi padat. Cara kerja metode difusi padat adalah mikroba uji yang telah diremajakan diinokulasikan kedalam MHA dan PDA sebanyak 100 µl lalu diratakan. Ke dalam medium yang berisi mikroba dimasukkan kertas cakram yang ditetesi dengan larutan ekstrak dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% sebanyak 20 µl. Setelah itu di simpan selama 24 jam pada suhu 37^0C untuk bakteri dan 5-7 hari pada suhu 25-28^0C untuk jamur. Diukur diameter hambatan yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Konsentrasi Hambat Minimum ditentukan dengan metode difusi agar dari diameter zona hambat yang terbentuk dengan konsentrasi 25%, 20%, 15%, 10% dan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1.
Skrining Fitokimia Ekstrak Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa)*

Golongan Senyawa	Ekstrak	Serbuk
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Tanin	-	-
Saponin	+	+
Steroid/Triterpenoid	+	+

Keterangan: (+) Terdapat kandungan kimia
(-) Tidak terdapat kandungan kimia

Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil skrining fitokimia didapatkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol *Gracilaria verrucosa* mengandung senyawa golongan saponin, flavonoid dan steroid/triterpenoid. Hasil uji saponin diperoleh hasil positif yang dibuktikan dengan terbentuknya busa stabil ±1cm dan setelah penambahan HCl 2N buihnya tidak hilang. Pada flavonoid menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna jingga kekuningan setelah penambahan NaOH 1N. Skrining fitokimia steroid/triterpenoid menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau.

Tabel 2.
Aktivitas Antimikroba *Propionibacterium acnes*

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm) *Propionibacterium acnes* Pengulangan			Rata-rata
	I	II	III	
25%	9,12	9,14	9,22	9,16
50%	10,12	10,78	10,08	10,32
75%	10,72	11,12	10,54	10,79
100%	12,52	11,46	12,34	12,10
Klindamisin	24,62	24,42	25,28	24,77
DMSO 10%	-	-	-	-

Keterangan**:** (-) Tidak terbentuk zona hambat

Tabel 3.
Aktivitas Antimikroba *Aspergillus niger*

Konsentrasi	Diameter Daya Hambat (mm) *Aspergillus niger* Pengulangan			Rata-rata
	I	II	III	
25%	-	-	-	-
50%	-	-	-	-
75%	-	-	-	-
100 %	-	-	-	-
Ketokonazol	14,7	13,8	14,5	14,3
DMSO 10%	-	-	-	-

Keterangan: (-) Tidak terbentuk zona hambat

Tabel 4.
Konsentrasi Hambat Minimum *Propionibacterium acnes*

Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes*	
Konsentrasi	Hasil
25%	-
20%	-
15%	+
10%	+
5%	+
Kontrol Negatif (Media MHA)	-
Kontrol Positif (Media + Bakteri)	+

Keterangan**:** (-) Tidak ada pertumbuhan
(+) Ada pertumbuhan

Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap *Propionibacterium acnes*

Hasil pengukuran Diameter Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Rumput Laut menurut (Nazri *et al.*, 2011) variasi diameter daya hambat dapat dikategorikan menjadi 3 yaitu, beraktivitas lemah (0-9 mm), beraktivitas sedang (10-14 mm) dan beraktivitas kuat (>15 mm). Dari hasil di atas diperoleh bahwa ekstrak etanol 96% rumput laut pada konsentrasi 25% termasuk dalam kategori lemah dan pada konsentrasi 50%, 75% dan 100% termasuk dalam kategori sedang. Pada kontrol positif klindamisin termasuk pada kategori kuat.

Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dibandingkan dinding sel bakteri Gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri Gram positif. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Irwan pada tahun 2012. Dalam penelitiannya menggunakan sampel uji rumput laut (*Gracilaria verucosa*) dengan pelarut metanol menunjukkan hasil yang negatif, tidak terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis.* Konsentrasi suatu sampel uji merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi besar kecilnya kemampuan ekstrak rumput laut dalam menghambat pertumbuhan mikroba.

Keberadaan metabolit sekunder yang terkandung dalam rumput laut menjadi faktor penting dalam penghambatan pertumbuhan bakteri.Senyawa saponin yang bersifat seperti sabun bekerja dengan membentuk suatu kompleks dengan sterol yang terdapat pada membran, sehingga menyebabkan kerusakan membran (Seli *et al.*, 2015). Senyawa flavonoid dapat bekerja sebagai antibakteri yaitu menghambat sintesis asam nukleat dilakukan dengan melalui cincin B pada flavonoid yang mempunyai peranan penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk pada asam nukleat yang menghambat sintesis DNA dan RNA (Cushnie & Lamb, 2005). Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis (Madduluri *et al.*, 2013).

Uji Aktivitas Antifungi terhadap *Aspergilus niger*

Hasil pengujian aktivitas antifungi menunjukkan tidak adanya aktivitas daya hambat ekstrak etanol 96% rumput laut terhadap *Aspergillus niger* dari setiap konsentrasi uji, meskipun dari hasil pemeriksaan kandungan kimia terdapat senyawa kimia berupa saponin dan steroid/triterpenoid. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sanggul, 2013. Penelitiannya dilakukan menggunakan ekstrak rumput *Gracilaria* sp. yang diujikan pada *Aspergillus flavus* dan menunjukkan hasil yang dapat menghambat pertumbuhan jamur. Sedangkan pada penelitian ini menunjukkan hasil yang negatif. Tidak terbentuknya zona pada *Aspergillus niger* kemungkinan konsentrasi dosis ekstrak yang digunakan belum mencapai konsentrasi dosis maksimum untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan fungi. Melihat hasil uji aktivitas antifungi ini yang tidak memiliki daya hambat maka penentuan nilai konsentrasi hambat minimum tidak dilakukan.

Konsentrasi Hambat Minimum *Propionibacterium acnes*

Berdasarkan hasil tersebut diperoleh bahwa pada konsentrasi 15%,10% dan 5% terjadi pertumbuhan bakteri dan pada konsentrasi 25% dan 20% tidak terjadi pertumbuhan bakteri, sehingga nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol 96% rumput laut terdapat pada konsentrasi 20%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin sedikit pertumbuhan bakteri.

SIMPULAN

Ekstrak etanol rumput laut (*Gracilaria verrucosa*) konsentrasi 25% - 100% memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan diameter daya hambat sebesar 9,16 mm - 12,10 mm, konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 20%. Ekstrak etanol rumput laut (*Gracilaria verrucosa*) tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Aspergillus niger*.

DAFTAR PUSTAKA

Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2008). Mikrobiologi Kedokteran, alih bahasa Huriawati Hartono. *Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta*.

Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, *26*(5), 343-356.https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857905002554

Delattre, C., Michaud, P., Courtois, B., & Courtois, J. (2005). Oligosaccharides engineering from plants and algae: applications in biotechnology and therapeutics. *Minerva Biotecnologica*, *17*(3), 107.

Fitria Helma. (2019). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun akar kaik-kaik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi. Skripsi. Institut Sains dan Teknologi Nasional.*

Prima, M. I. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol ganggang merah Gracilaria verrucosa terhadap beberapa bakteri patogen gram positif dan gram negatif.http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/handle/123456789/26467

Madduluri, S., Rao, K. B., & Sitaram, B. (2013). In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *5*(4), 679-684.

Nasmia, N., Natsir, S., & Rosyida, E. (2016). Potensi aktivitas dari ekstrak rumput laut *Sargassum cinereum* terhadap bakteri patogen ice pada *Gracilaria verrucosa. Prosiding Semnas Hasil Penelitian*. http://jurnal.unmas.ac.id/index.php/pros/article/view/407

Nazri, N. M., Ahmat, N., Adnan, A., Mohamad, S. S., & Ruzaina, S. S. (2011). In vitro antibacterial and radical scavenging activities of Malaysian table salad. *African Journal of Biotechnology*, *10*(30), 5728-5735. https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/94445

Hutasoit, S., Suada, I. K., & SUSRAMA, I. G. (2013). Uji aktivitas antijamur ekstrak beberapa jenis biota laut terhadap Aspergillus flavus LINK dan Penicillium sp. LINK. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika (Journal of Tropical Agroecotechnology)*. https://ocs.unud.ac.id/index.php/JAT/article/view/4576

Marselia, S., Wibowo, M. A., & Arreneuz, S. (2014). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Soma (Ploiarium Alternifolium Melch) Terhadap Propionibacterium acnes. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, *4*(4). https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/11605

Hasanah, U. (2017). Mengenal aspergillosis, infeksi jamur genus aspergillus. *Jurnal keluarga sehat sejahtera*, *15*(2), 76-86. https://jurnal.unimed.ac.id/2012/index.php/jkss/article/view/8777