

Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Pigmen Klorofil Rumput Laut *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh

LISIARD DIMARA* DAN TIEN NOVA B. YENUSI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua

Diterima: tanggal 18 Juli 2011 - Disetujui: tanggal 15 September 2011

© 2011 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

The determination of antimicrobial and antioxidant activities of Chlorophyll pigment of *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh is described in this study. The aim of the study was to find out the effectiveness of chlorophyll extract in inhibiting growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Paper disc method was used to study the hampering the ability of chlorophyll toward both bacteria, and the DPPH (1,1-difenil-2-dipikrilhidrazil) method was used to find out the antioxidant activity. The result showed that extract chlorophyll can inhibit the growth of both bacteria at the concentration of 100% with the inhibition diameter zone 2.170 cm and 2.100 cm respectively. Whereas the IC₅₀ of the chlorophyll is 2350.3 ppm can be served as an antioxidants.

Key words: antibacterial, antioxidants, chlorophyll, *Caulerparacemosa* (Forsskål) J. Agardh.

PENDAHULUAN

Sebagai negara yang dikelilingi oleh lautan, Indonesia mempunyai panjang pantai ± 81.000 km dengan luas perairannya mencapai ± 6.846.000 km². Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia memiliki potensi untuk mengembangkan dan memanfaatkan sumberdaya kekayaan lautnya. Pemanfaatan sumberdaya wilayah laut diharapkan dapat meningkatkan laju pembangunan dan mengurangi ketergantungan pada wilayah daratan (Susanto, 2008). Salah satu sumber daya hayati laut yang banyak dimanfaatkan adalah rumput laut (Pangestuti & Limantara, 2007; Susanto, 2008; Nurcahyanti & Martosupono, 2009; Rafael & Limantara, 2009; Yenusi, 2011; Fithriani, 2009).

Rumput laut atau *seaweed* termasuk tumbuhan bertalus yang banyak dijumpai hampir di seluruh perairan Indonesia, terutama di pantai yang mempunyai rataan terumbu karang. Di dalam perairan, rumput laut menempati posisi sebagai produsen primer yang menyokong kehidupan biota lain pada tingkat tropik yang lebih tinggi. Rumput laut umumnya hidup di dasar laut dan substratnya dapat berupa pasir, pecahan karang (gravel), karang mati, serta benda-benda keras yang terendam di dasar laut (Susanto, 2008; Nurcahyanti & Martosupono, 2009; Rafael & Limantara, 2009; Fithriani, 2009).

Rumput laut merupakan *makroalgae* bentik yang terdiri dari jenis-jenis yang termasuk divisio Rhodophyta (algae merah), Phaeophyta (algae coklat), dan Chlorophyta (algae hijau). Rumput laut bersama-sama dengan lamun berkontribusi penting terhadap rantai makanan di perairan pantai. Tumbuhan bentik ini pada lingkungan laut terbukti sebagai penyedia habitat dan makanan untuk herbivora (Susanto, 2008; Nurcahyanti & Martosupono, 2009; Rafael & Limantara, 2009).

*Alamat Korespondensi:

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Cenderawasih,
Jayapura. Jln. Kamp Wolker, Waena, Jayapura.
Tlp: 0967-572116, e-mail: lisiard_dmr@yahoo.co.id

Potensi rumput laut di Indonesia mempunyai prospek yang cukup cerah, meskipun pada saat ini pemanfaatannya sangat terbatas hanya pada jenis-jenis yang telah umum dikenal, yaitu dari marga *Gracilaria*, *Eucheuma*, *Hypnea*, dan *Gelidium*. Keadaan tersebut secara umum ditunjang oleh potensi wilayah yang baik seperti keadaan perairan yang mendukung kehidupan rumput laut, ketersediaan secara alami banyak, dan lahan budidaya yang luas (Susanto, 2008; Nurcahyanti & Martosupono, 2009; Fithriani, 2009).

Rumput laut memiliki nilai ekonomi yang sangat penting bagi para penduduk karena dapat dimanfaatkan untuk sayuran, obat tradisional, pupuk organik, makanan ternak dan sebagainya. Bahkan senyawa kimia yang diekstraksi dari algae laut makrobentik ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dan bahan tambahan untuk pembuatan makanan kesehatan, minuman kesehatan, obat-obatan, kosmetik, eksplorasi kandungan klorofil, karotenoid, dan lain sebagainya (Susanto, 2008; Christiana *et al.*, 2008; Pirenantyo & Susanto, 2008; Nurcahyanti & Martosupono, 2009; Rafael & Limantara, 2009).

Diantara pulau-pulau di Indonesia, Pulau Papua memiliki potensi rumput laut yang cukup menjanjikan untuk dimanfaatkan. Salah satu jenis rumput laut yang telah banyak dimanfaatkan adalah *Caulerpa racemosa*. Fithriani (2009) melaporkan bahwa *Caulerpa racemosa* adalah salah satu jenis rumput laut hijau yang tumbuh secara alami di perairan Indonesia, bersifat *edible* atau dapat dikonsumsi oleh masyarakat sebagai sayuran segar atau lalapan (makanan kesehatan). Berdasarkan manfaat kesehatan inilah pengujian aktivitas antibakteri dan antioksidan klorofil *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh dilakukan.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung selama 4 bulan, yaitu Januari-April 2011 di Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Cen-

derawasih (UNCEN), Jayapura dan Laboratorium Pigmen Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana (UKSW) Salatiga. Sampel diperoleh dari 2 lokasi yang berbeda, yaitu di Perairan laut Pulau Insubrei, Kabupaten Supiori, dan di Pasar Youtefa Abepura.

Ekstraksi Pigmen Klorofil *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh

Sampel yang masih segar dihaluskan menggunakan mortal, disaring untuk memisahkan lendir-lendir dari selaput hijau sampel, kemudian ditimbang sebanyak 10 gram menggunakan timbangan analitik. Sampel tersebut kemudian ditambahkan CaCO_3 sebagai agen penetral dan sodium askorbat sebagai antioksidan. Proses ekstraksi menggunakan pelarut aseton dan metanol dengan perbandingan 3:7 (v/v), ekstrak disaring menggunakan kertas saring, residu diekstrak ulang dengan pelarut yang sama sampai semua pigmen terangkat (Kusmita, 2007; Heryanto *et al.*, 2006).

Isolasi pigmen Klorofil dari *C. Racemosa*

Ekstrak pekat pigmen klorofil, hasil dari ekstraksi *C. racemosa* selanjutnya dipartisi menggunakan dietil eter dalam corong pisah. Apabila belum terjadi pemisahan antara pigmen dan pelarut, maka ditambahkan dietil eter atau akuades untuk membantu pemisahannya. Setelah didapatkan lapisan larutan pigmen yang sudah pekat, selanjutnya dikeringkan menggunakan gas N_2 (Kusmita, 2007). Tahap ini menghasilkan isolasi ekstrak kasar klorofil yang siap digunakan.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian efek antibakteri dilakukan dengan metode difusi menggunakan cakram kertas saring diameter 1,5 cm. Dosis yang digunakan adalah 0% dan 100% pelarut. Setelah diinkubasi selama 24 jam diameter zona terang disekeliling cakram kertas diukur, dan disebut sebagai diameter zona hambatan.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui fungsi jenis pigmen klorofil *C.*

racemosa yang paling potensial sebagai suplemen vitamin A. Parameter yang digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan adalah IC_{50} . Semakin kecil konsentrasi IC_{50} , maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan dari pigmen klorofil *C. Racemosa* diuji menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-dipikrilhidrazil). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, peka, serta hanya memerlukan sedikit sampel (Hanani *et al.*, 2005).

Larutan DPPH 0,5 mM dipersiapkan dengan cara melarutkan DPPH dalam metanol dan buffer asetat pH 5,5. Pigmen sebanyak 0,1 ml ditambah 2 ml asam asetat; 1,9 ml metanol, dan 1 ml larutan DPPH untuk selanjutnya disebut larutan sampel. Komposisi blanko seperti larutan sampel tetapi tanpa penambahan DPPH, sedangkan larutan kontrol terdiri dari 2 ml buffer asetat, 1 ml DPPH, dan 2 ml metanol. Setelah penambahan larutan DPPH, masing-masing larutan baik sampel maupun kontrol dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirer*. Blanko, kontrol, maupun sampel diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer Varian Carry 50 berkas tunggal (Tagashira & Ohtake dalam Panovska *et al.*, 2005; Mokbel & Hashinaga, 2005). Persentase aktivitas penghambatan dihitung dengan menggunakan rumus menurut Syu *et al.* (2002) dalam Mokbel & Hashinaga (2005), yaitu:

$$\% \text{penghambatan} = \frac{[A_0 - (A - A_b)]}{A_0} \times 100\%$$

Ket.:

A_0 = Absorbansi larutan kontrol pada λ_{517} nm

A = Absorbansi larutan sampel pada λ_{517} nm

A_b = Absorbansi larutan blanko pada λ_{517} nm

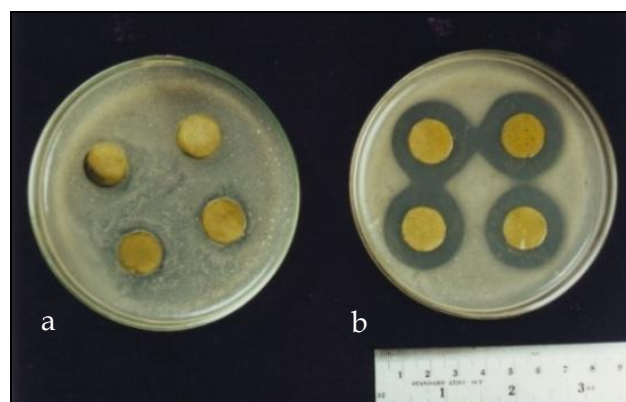
Hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing fraksi dibandingkan dengan aktivitas antioksidan marker β -karoten (E-Merck, No. 1,02236). Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

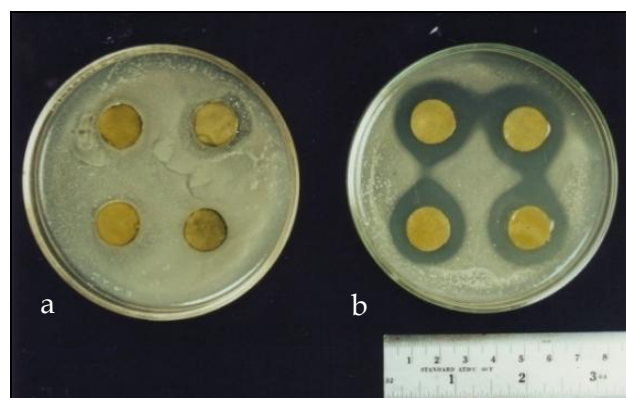
Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Pigmen Klorofil *Caulerpa racemosa*

Hasil uji antibakteri adalah Diameter Daerah Hambatan (DDH) ekstrak kasar pigmen algae *C. racemosa* dengan metode difusi menggunakan cakram kertas saring. Pengujian antibakteri dengan metode difusi menggunakan cakram kertas saring menghasilkan zona terang (gambar 1).

Pada cawan A tampak jelas bahwa



Gambar 1. Uji antibakteri ekstrak kasar pigmen klorofil *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh terhadap *Staphylococcus aureus*.



Gambar 2. Uji antibakteri ekstrak kasar pigmen alga *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh terhadap *Escherichia coli*.

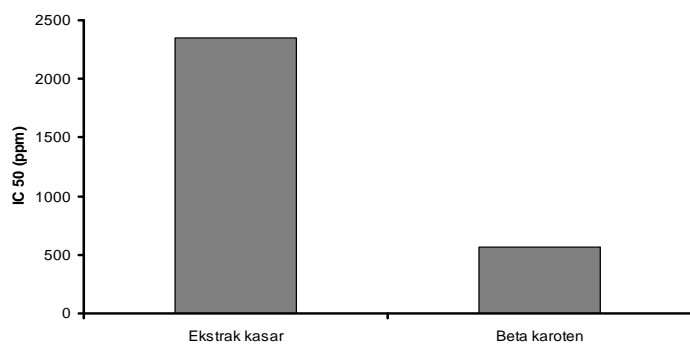
A. Kontrol tanpa sampel antibakteri sehingga pertumbuhan bakteri normal

B. Sampel-zona terang menunjukkan hasil pengujian + (tidak ada pertumbuhan bakteri).

Tabel 1. Diameter Daerah Hambatan yang disebabkan oleh ekstrak kasar pigmen klorofil *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh selama 2 x 24 jam

Bakteri	Diameter daerah hambatan / DDH (cm) ekstrak kasar pigmen klorofil <i>Caulerpa racemosa</i>	
	0%	100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	2,170
<i>Escherichia coli</i>	-	2,100

Ket.: - : bakteri tidak terhambat/tidak ada daerah hambatan; angka menunjukkan diameter daerah hambatan

Gambar 3. Nilai IC₅₀ (ppm) Ekstrak Kasar Pigmen Klorofil.

disekeliling cakram kertas saring tetap ditumbuhi bakteri, sedangkan disekeliling cakram kertas saring pada cawan B terdapat zona terang yang menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri (Gambar 1 dan 2).

Hasil dari penentuan DDH menunjukkan variasi yang berbeda (Tabel 1). Perbedaan ini diduga dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi sampel, konsentrasi inokulum, ketebalan lapisan agar, kekuatan difusi dari sampel, dan kepekaan bakteri terhadap sampel. Konsentrasi sampel yang lebih tinggi menyebabkan efek hambatan yang lebih tinggi, sehingga DDH menjadi lebih besar. Hal ini berlawanan untuk konsentrasi inokulum yang semakin besar konsentrasinya menyebabkan efek hambatan yang lebih kecil, sehingga zona hambatan makin kecil.

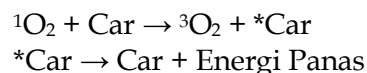
Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Pigmen Klorofil *C. racemosa*

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kasar pigmen klorofil *C. racemosa* menggunakan DPPH. Aktivitas antioksidan pada penelitian ini dihitung berdasarkan konsentrasi penghambatan

radikal bebas 50% (IC₅₀), dibandingkan dengan marker β -karoten yang merupakan antioksidan alami. Nilai IC₅₀ ekstrak kasar pigmen klorofil *C. racemosa* sebesar 2350.3 ppm lebih tinggi dari marker β -karoten yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 565.76 ppm (Gambar 3.).

Semakin tinggi nilai IC₅₀ maka kemampuan untuk menangkap radikal bebas semakin kecil, sebaliknya nilai IC₅₀ yang rendah menunjukkan kemampuan untuk menangkap radikal bebas semakin besar. Pemberian konsentrasi ekstrak kasar pigmen klorofil *C. racemosa* dalam jumlah tertentu tetap dapat berfungsi sebagai senyawa penangkap radikal bebas, meskipun tidak seefisien β -karoten.

Mekanisme kerja antioksidan dari ekstrak kasar pigmen klorofil *C. racemosa* diduga sama seperti mekanisme kerja karotenoid secara umum yaitu sebagai berikut:



Karotenoid dapat berfungsi sebagai *quencher* singlet oksigen (Krinsky, 1979, 1989; Yanisliewa-Maslarova, 2001; Trilaksani, 2003) sehingga karotenoid dapat mengubah singlet oksigen menjadi triplet oksigen. Karotenoid yang tereksitasi tersebut akan melepaskan panas kemudian kembali menjadi karotenoid yang stabil. Gordon (1990) mengatakan bahwa antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen.

Dari mekanisme kerja antioksidan karotenoid tersebut, maka karotenoid dapat digolongkan ke dalam antioksidan sekunder. Jika dilihat dari fungsinya, karotenoid juga dapat digolongkan sebagai antioksidan tersier karena dapat memperbaiki kerusakan sel-sel yang disebabkan oleh radikal bebas (Krinsky, 1979, 1989). Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa antioksidan tersier berperan untuk memperbaiki kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas (Karyadi, 1997).

KESIMPULAN

Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dihambat oleh pigmen klorofil *Caulerpa racemosa* pada konsentrasi larutan pigmen 100% dengan Diameter Daerah Hambatan (DDH) sebesar 2,170 cm. Selanjutnya, pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat pula dihambat oleh pigmen klorofil *C. racemosa* pada konsentrasi larutan pigmen 100% dengan DDH sebesar 2,100 cm. Ekstrak kasar pigmen klorofil *C. racemosa* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2350,3 ppm, dan dapat berfungsi sebagai senyawa penangkal radikal bebas (antioksidan).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Tien Nova B. Yenusi yang telah bersedia *mensharingkan* sebagian sampel dan data pendukung penelitian sehingga memperkaya penelitian ini. Terima kasih penulis sampaikan juga kepada Yheni Dwiningsih yang telah membantu dalam analisis sampel dan analisis data di Laboratorium Pigmen UKSW Salatiga.

DAFTAR PUSTAKA

- Christiana, R., A.B. Susanto, dan L. Limantara. 2008. *Analisis pigmen ekstrak aseton rumput laut Udotea sp., Amphiroa rigida dan Turbinaria conoides dengan komatografi cair kinerja tinggi (KCKT)*. Prosiding Seminar Nasional Pigmen: Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Program Studi Magister Biologi UKSW. Salatiga. ISBN: 979-1098-16-4.
- Fithriani, D. 2009. *Potensi antioksidan Caulerpa racemosa di perairan Teluk Hurun Lampung*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor.
- Gordon, 1990. Assessing antioxidant and prooxidant activities and phenolic compound. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48: 3597-3604.
- Hanani, E., A. Mun'im, R. Sekarini dan R. Sekarini. 2005. Uji aktivitas antioksidan beberapa spons laut dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 11(1): 11-15.
- Heriyanto, S. Hartini., dan L. Limantara. 2006. *Kandungan klorofil, feofitin, dan feoforbid sawi jabung (Brassica jancea (L.) Czern. & Coss.) selama proses pengolahan dan penyimpanan sayur asin*. Fakultas Sains dan Matematika UKSW. Salatiga.
- Karyadi, E., 1997. *Antioksidan resep sehat dan umur panjang*. UI Press, Jakarta.
- Krinsky, N. I. 1979. Carotenoids protection against oxidation. *Pure appl. Chem*. 51: 649-660.
- Krinsky, N. I. 1989. *Beta-carotene: function*. In *New protective roles for selected nutrients*. (G. A. Spiller dan J. Scala, eds). Alan R. Liss. New York. pp. 1-5.
- Kusmita, L. 2007. *Formulasi metode ekstraksi pigmen klorofil*. Program Studi Magister Biologi. [Thesis] UKSW. Salatiga.
- Mokbel & Hashinaga, 2005. Aggregation of chlorophyll a probed by resonance light scattering spectroscopy. *Biophysical Journal*. 68: 335-341.
- Nurchayanti, A.D.R., dan M. Martosupono. 2009. Menggali kandungan nutrisi dan manfaat kesehatan dari sayuran rumput laut. *Bios-Majalah Biologi Populer*. 3(1): 5-10.
- Pangestuti, R., dan L. Limantara. 2007. Rumput laut: Zamrut tak tergali dari laut. *Bios-Majalah Biologi Populer*. 1(2): 4-9.
- Panovska, T., S. Kulevanova., and M. Stefova. 2005. In vitro antioxidant activity of some Teucrium species (Lamiaceae). *Acta Pharm*. 55: 207-214.
- Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta. Hal 137-140, 452-459.
- Pirenantyo, P., dan A.B. Susanto. 2008. *Pigmen dari spirulina: Potensi, sistem produksi, riset, dan teknologi*. Prosiding Seminar Nasional Pigmen: Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Program Studi Magister Biologi UKSW. Salatiga. ISBN: 979-1098-16-4.
- Rafael, A., dan L. Limantara. 2009. WAKAME (*Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar), rumput laut yang kaya manfaat nutrisi dan kesehatan. *Bios-Majalah Biologi Populer*. 3(1): 11-18.
- Susanto, AB. 2008. *Penelitian rumput laut di Indonesia dan potensi pemanfaatan klorofil*. Prosiding Seminar Nasional Pigmen: Sains dan Teknologi Pigmen Alami. Program Studi Magister Biologi UKSW. Salatiga. ISBN: 979-1098-16-4.
- Trilaksana, W., 2003. *Antioksidan: jenis, sumber, mekanisme kerja dan peran terhadap kesehatan*. Term paper. Intoductory Science Phylosophy (PPS702). Graduate Program (S3). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Yanishlieva-Maslarova, N. V., 2001. 3: *Inhibiting oxidation*. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC. 22-70. dalam Pokorny, J., Yanishlieva, N., dan Gordon, M. (Eds), 2003. *Antioxidant in Food Practical application*. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC.
- Yenusi, N. Y. B. 2011. *Fotostabilitas ekstrak kasar klorofil rumput laut (Caulerpa racemosa)*. [Skripsi] Universitas Cenderawasih. Jayapura.