BIOAKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI PROTEIN ALGA MERAH *Gelidium amansii* DARI PERAIRAN CIKOANG KABUPATEN TAKALAR, SULAWESI SELATAN

Seniwati Dali, Hasnah Natsir, Hanapi Usman dan Ahyar Ahmad

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar

ABSTRACT

A research on the ability of protein fraction from red algae *Gelidium amansii* to inhibit the growth of *Salmonella thypi* and *Staphylococcus aureus* has been conducted. Proteins was fractionated from the crude extract by salting out method with 0 – 20 %, 20 – 40 %, 40 – 60 % and 60 – 80 % ammonium sulfat saturation. Proteins was purified by a dialysis method using a selophan membrane. The protein level was determined by Lowry's method, the highest protein concentration, 5.6 mg/mL was found in the 40 – 60 % fraction of the red algae. Antibacterial activity test was performed using a layered jelly diffusion method on the MHA medium. Results indicated that crude extract and the protein fraction of the red algae had antibacterial effect to *Salmonella thypi* and *Staphylococcus aureus*. The highest antibacterial activity to *Staphylococcus aureus* was found in the 0-20% fraction with the inhibition diameter of 14.43 mm after incubated for 24 hours. These research might provide a significant results for the following research on the antibacterial action in molecular level of protein compounds from marine algae.

Keywords: antibacterial, Lowry's method, protein fraction, red algae.

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi menemukan adanya perubahan pola penyakit dan resistensi kuman penyakit terhadap antibiotik yang ada saat ini. Resistensi kuman penyakit terhadap antibiotik yang telah ada disebabkan karena terjadinya mutasi gen. Timbulnya mutan-mutan baru sering mengakibatkan antibiotik tidak dapat digunakan sesuai dosis yang telah dianjurkan. Untuk mengatasi masalah tersebut, maka usaha penemuan obat antibiotik baru terus dilakukan. Saat ini penelitian cenderung dikembangkan ke arah laut karena sebagian besar sumber daya alamnya belum dimanfaatkan secara maksimal. Inverte-brata laut merupakan produsen senyawa bioaktif terbesar di antara biota lainnya seperti spons, cnidarians, bryozoa, tunicates dan alga (1) dan beberapa organisme laut menghasilkan senyawa kimia yang tidak terdapat atau jarang ditemukan pada organisme yang hidup di darat. Beberapa senyawa tersebut telah ditemukan memiliki sifat biomedik yang berguna untuk pengobatan penyakit pada manusia (2,3).

Indonesia telah dikenal luas sebagai negara kepulauan yang sebagian besar wilayahnya adalah lautan dan mempunyai garis pantai terpanjang di dunia yaitu sekitar 80.791,42 km. Di dalam lautan terdapat bermacam-macam mahluk hidup baik berupa tumbuhan air maupun hewan air. Besarnya potensi biota laut membuat para ilmuan dan produsen senyawa antibiotik dunia mulai melirik laut sebagai sumber antibiotik potensial. Hal ini mungkin disebabkan karena sebagian besar sumber daya alam di laut belum dieksploitasi secara maksimal dan juga kebutuhan dunia saat ini terhadap antibiotik jenis baru semakin mendesak, karena antibiotik standar yang ada sekarang semakin berkurang efektivitasnya karena banyak bakteri patogen yang sudah mulai resisten terhadap antibiotik tersebut. Tingginya kasus infeksi baik yang endemik maupun epidemik serta penggunaan obat-obat yang terus menerus diduga sebagai penyebab terjadinya resistensi.

Beberapa biota laut seperti spons dan alga telah banyak diteliti, dieksplorasi dan dikembangkan untuk digunakan sebagai sumber bahan baku obat di industri farmasi. Eksplorasi dan penelitian biota laut untuk keperluan farmasi telah berkembang pesat dalam kurun waktu 30 – 40 tahun terakhir. Hal ini diakselerasi dengan meningkatnya kesadaran pelaku industri dan konsumen obat (farmasi) dalam dan luar negeri untuk memprioritaskan penggunaan obat dari bahan alami yang dikenal dengan istilah "*back to nature*" (4,5).

Alga hijau, alga merah ataupun alga coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi pengembangan (a) industri farmasi seperti sebagai antibakteri, antitumor, antikanker atau sebagai *reversal agent* dan (b) industri agrokimia terutama untuk *antifeedant*, fungi-sida dan herbisida (6). Kemampuan alga laut untuk memproduksi metabolit sekunder terhalogenasi yang bersifat sebagai senyawa bioaktif dimungkinkan terjadi, karena kondisi lingkungan hidup alga yang ekstrem seperti salinitas yang tinggi atau digunakan untuk mempertahankan diri dari ancaman predator (6).

Dalam beberapa dekade terakhir, berbagai variasi struktur senyawa bioaktif yang sangat unik dari isolat alga laut telah berhasil diisolasi. Namun berdasarkan studi pustaka yang telah dilakukan, pemanfaatan sumber bahan bioaktif dari alga ini terutama dari kelompok protein belum banyak dilakukan.

Studi pendahuluan terhadap senyawa nonpolar dari beberapa spesies makroalga dilaporkan mempunyai potensi antibiotik, antibakteri, dan antitumor (7,8). Penelitian terhadap spesies makroalga *Thalassia hemprichii* yang kemudian diketahui memproduksi senyawa antibakteri. Setelah dilakukan pemurnian, makroalga yang sudah jadi ekstrak itu diteteskan pada kertas filter steril dan dilakukan proses uji kadar hambatan minimal. Pada tahap ini diketahui komponen hasil pemurnian memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri isolat klinis, meskipun tidak diketahui jenis senyawa bioaktifnya (9). Hasil pengujian *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan bahwa biotoksin aktif yang diisolasi dari alga laut *Fucur vesiculosus* dan *Archidoris pseudoargus* memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S.aeureus* dan *Streptococcus sp.* (10). Kemampuan ekstrak kasar dari beberapa spesies alga laut sebagai antibakteri terhadap *Staphylococus aureus* telah diteliti (11). Penelitian ini secara spesifik menemukan bahwa spesies makroalga *Caulerpa taylori, Halimeda discoidea, Ulva rugida, Dictyota, sp,* dan *Osmundea hybrida* efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococus aureus* dengan diameter hambatan lebih kurang 14 mm.

Sejauh ini belum banyak data penelitian yang mengeksplorasi kelompok senyawa bioaktif alga merah dari perairan Sulawesi Selatan sebagai bahan baku obat pada penyakit manusia maupun hewan. Saat ini beberapa senyawa bioaktif yang terdapat pada alga merah relatif masih sedikit yang dilaporkan sehingga dipandang perlu dilakukan eksplorasi yang lebih luas terhadap potensi yang dimiliki oleh jenis alga tersebut.

Studi pendahuluan yang telah dilakukan terhadap fraksi protein makro alga *Laurencia cartilaginea* Yamada dari perairan pulau Barang Lompo menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, khususnya terhadap *Staphylococus aureus* dan *E. coli* (7). Selain perairan pulau Barang Lompo, terdapat pulau Cikoang di kabupaten Takalar yang memiliki perairan dengan populasi alga yang cukup melimpah dengan spesies yang beragam jenisnya. Pemanfaatan senyawa bioaktif akan semakin baik apabila dapat diperoleh dari sumber bahan baku alga yang melimpah, dan jenis alga yang cukup melimpah di perairan Indonesia khususnya di Sulawesi Selatan adalah alga merah. Atas dasar pemikiran di atas, maka dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba dari spesies alga merah.

Penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi dan mengkarakterisasi senyawa bioaktif dari jenis alga merah di Sulawesi Selatan. Senyawa bioaktif yang diperoleh akan diuji pengaruhnya terhadap antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein bioaktif dari alga merah pada kejenuhan antara 0 – 20% amonium sulfat memiliki aktivitas terkuat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambatan sebesar 14,43 mm. Dari hasil penelitian ini diharapkan munculnya pengetahuan dan pengertian yang lebih baik terhadap komponen senyawa bioaktif alga merah dan alga hijau yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri yang baru.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alga merah, *buffer tris* (hydroksimetil) amino metana (Merck), β-merkapto etanol (Merck), natrium klorida (Merck), kalsium klorida (Wako Pure Chemical Industries), akuades, asam klorida, tri-ton-X 100, amonium sulfat (Merck), Folin-Ciocalteus (Merck),reagen Lowry B (Na_2CO_3 2 %, NaOH 0,1 N, $CuSO_4.5H_2O$ 1%, Natrium Kalium Tartrat 2%), biakan murni *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus,* medium NA (nutrien agar) (Difco), medium MHA (muller hinton agar) (Oxoid), larutan BSA (bovine serum albumin), kloramfenikol, kantong selofan dan aluminium foil.

Pengambilan dan Penyimpanan Sampel Alga merah

Pengambilan sampel alga merah dilakukan di perairan Cikoang, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan dengan kedalaman 1 – 2 meter. Sampel alga diambil dengan menggunakan pisau lalu disimpan dalam wadah yang berisi es batu.

Preparasi Sampel

Alga merah dipotong-potong kecil lalu ditimbang segar sebanyak 500 g, lalu dihaluskan dengan 500 ml buffer A (tris (hydroksimetil) amino metana 0,1 M yang mengandung NaCl 2 M, $CaCl_2$ 0,01 M, β-merkaptoetanol 1 % dan triton X-100 0,5% pada suhu 4°C lalu disaring dengan menggunakan corong Buchner. Filtrat sebagai ekstrak kasar dibeku-cairkan sebanyak 2 – 3 kali, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm, selama 30 menit pada suhu 4 ^{o}C.

Fraksinasi

Ekstrak kasar sampel alga difraksinasi dengan amonium sulfat pada tingkat kejenuhan 0 – 20%, 20 – 40 %, 40 – 60 % dan 60 – 80 %.

Dialisis

Endapan-endapan yang diperoleh setelah fraksinasi dari masing-masing tingkat kejenuhan amonium sulfat didialisis di dalam sejumlah buffer B (tris(hydroksimetil) amino metana 0,1 M yang mengandung NaCl 0,2 M dan $CaCl_2$ 0,01 M), lalu

didialisis di dalam sejumlah buffer C (tris (hydroksimetil) amino metana 0,01M yang mengandung NaCl 0,2 M dan $CaCl_2$ 0,01 M). Masing-masing fraksi protein tersebut dimasukkan ke dalam kantong selofan lalu dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi buffer B lalu diaduk dengan *magnetik stirrer*. Proses dialisis ini dilanjutkan dengan mengganti larutan buffer B dengan buffer C. Dialisis terus dilakukan sampai larutan buffer tidak berwarna.

Penentuan Kadar Protein

Untuk penentuan kadar protein setiap fraksi digunakan metode Lowry dengan bovine serum albumin (BSA) sebagai larutan standar.

Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri *Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aerus* yang berasal dari biakan murni, diambil sebanyak 1 ose lalu digores pada medium NA (nutrien agar) miring kemudian diinkubasi pada suhu 37 ^{o}C selama 1 x 24 jam.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Dari masing-masing bakteri yang telah diremajakan diambil satu ose dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% kemudian dihomogenkan dan dibandingkan kekeruhannya dengan tabung standar 0,5 Mac Farland. Jika sudah sama atau hampir sama maka dianggap sudah baik dan dapat digunakan pada prosedur selanjutnya yaitu pengujian daya hambat.

Uji Antibakteri

Medium MHA steril didinginkan hingga suhu 40 – 45 ^{o}C, kemudian dituang ke dalam cawan petri sebanyak 30 mL dan dibiarkan memadat sebagai lapisan dasar atau *base layer*. Setelah memadat, suspensi bakteri (*Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*) dimasukkan sebanyak 3 mL ke dalam 15 mL medium MHA lalu dihomogenkan dan dituang di atas *base layer* dan dibiarkan setengah padat sebagai *seed layer*. Setelah itu, 7 buah pencadang diletakkan dengan menggunakan pinset yang steril pada permukaan medium dengan jarak pencadang satu dengan yang lain 2 – 3 cm dari pinggir cawan petri dan dibiarkan pada suhu kamar. Masing-masing pencadang diisi dengan ekstrak kasar, fraksi protein 0 – 20 %, 20 – 40 %, 40 – 60 % dan 60 – 80 % dari sampel alga, larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan larutan BSA sebagai kontrol negatif sebanyak masing-masing 0,25 mL dengan mikropipet. Inkubasi dilangsungkan pada suhu 37 ^{o}C selama kurang lebih 1 x 24 jam lalu diukur diameter zona hambatan yang terbentuk dengan mistar geser bersatuan millimeter. Inkubasi dilanjutkan lagi selama 1 x 24 jam untuk melihat sifat dari senyawa bioaktif yang dikandung oleh sampel alga tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi, Isolasi dan Pemurnian Protein dari alga merah *Gelidium amansii*

Hasil pengukuran kadar protein alga merah dari ekstrak kasar dan fraksi amonium sulfat dilakukan berdasarkan metode Lowry menggunakan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai cairan standar (12). Pola distribusi protein dari alga merah pada ekstrak kasar dan fraksi protein dari berbagai tingkat kejenuhan amonium sulfat secara lengkap dapat dilihat pada tabel 1.

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa konsentrasi protein dari ekstrak kasar alga merah *Gelidium amansii* adalah 1,2 mg/mL dengan total protein sebesar 492,0 mg dari volume ekstrak kasar 410 mL. Pada tabel 1 terlihat bahwa konsentrasi kadar protein tertinggi ditemukan pada fraksi 40 – 60 % kejenuhan yaitu sebesar 5,6 mg/mL, sedangkan kadar protein terendah ditemukan pada fraksi 60 – 80 % kejenuhan yaitu 1,5 mg/mL.

Konsentrasi protein yang berbeda-beda pada tiap fraksi mengindikasikan adanya perbedaan kelarutan protein dalam air. Protein yang kelarutannya kurang dalam air maka terlebih dahulu mengendap dibandingkan dengan protein yang kelarutannya lebih tinggi dalam air. Hal ini disebabkan oleh adanya kompetisi antara protein dengan garam ammonium sulfat dalam mengikat pelarut dari protein. Protein yang kurang mengikat pelarutnya pada proses fraksionasi, maka protein tersebut yang kemudian mengendap. Dari data tersebut dapat diduga bahwa fraksi protein yang memiliki konsentasi protein tertinggi merupakan jenis protein yang kelarutannya rendah dalam air.

Fraksi protein yang diperoleh dari hasil dialisis diuji kemampuan senyawa bioaktifnya terhadap beberapa spesies bakteri patogen. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri gram negatif (*S. typhi*) sedangkan bakteri gram (*S. aureus*), yang keduanya merupakan bakteri patogen pada manusia.

Pengujian daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan dengan metode difusi agar. Metode difusi agar dilakukan dengan meletakkan *paper disk* pada medium Mueller Hinton Agar (MHA) yang telah direndam pada berbagai konsentrasi larutan ekstrak kasar dan fraksi protein dari alga merah.

Bioaktivitas Antibakteri Fraksi Protein Alga Merah Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus*

Hasil pengukuran diameter zona hambatan berbagai tingkat fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* setelah masa inkubasi 24 jam dan 48 jam dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Pola distribusi ekstrak kasar dan fraksi protein pada fraksinasi berbagai tingkat kejenuhan ammonium sulfat pada alga merah *Gelidium amansii*

No.	Fraksi	Volume Tiap Fraksi (mL)	Konsentrasi Protein (mg/mL)	Total Protein (mg)
1	Ekstrak Kasar	410	1,2	492,0
2	0-20 %	19,5	4,5	87,7
3	20-40 %	18,5	1,6	29,6
4	40-60 %	25,0	5,6	140,0
5	60-80 %	21,0	1,5	31,5

Tabel 2. Bioaktivitas fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* terhadap *Staphylococcus aureus* selama 24 jam dan 48 jam

Fraksi Protein	Rata-rata Diameter Hambatan (mm)	
	24 jam	48 jam
Ekstrak Kasar	17,43	16,93
0- 20%	14,43	13,47
20-40%	11,60	11,20
40-60%	11,50	11,37
60-80%	13,30	9,77
Kontrol (+)	19,50	19,27
Kontrol (-)	6,00	6,00

Keterangan :
K (+) : Kontrol + menggunakan Kloramfenikol,
K (-) : Kontrol – menggunakan larutan BSA (Bovine Serum Albumin)

Berdasarkan data pada tabel 2, diameter zona hambatan ekstrak kasar dan fraksi protein alga merah *Gelidium amansii* yang terbentuk pada masa inkubasi 24 jam mengalami penurunan setelah masa inkubasi 48 jam. Diameter zona hambatan ekstrak kasar menurun dari 17,43 mm menjadi 16,93 mm. Untuk fraksi protein 0 – 20 % yang awalnya sebesar 14,43 mm menurun menjadi 13,47 mm. Begitu pula pada fraksi protein 20 – 40 % yang awalnya berdiameter 11,60 mm menurun menjadi 11,20 mm dan pada fraksi protein 40 – 60 % juga menurun dari 11,50 mm menjadi 11,37 mm. Demikian halnya juga terjadi pada fraksi protein 60 – 80 %, dari 13,30 mm menjadi 9,77 mm.

Hal ini menunjukkan bahwa fraksi protein alga merah *Gelidium amansii* bersifat bakteriostatik untuk bakteri uji *Staphylococcus aureus* karena setelah diinkubasi selama 48 jam, diameter zona hambatannya berkurang. Suatu antibiotik dikatakan bersifat bakteriostatik jika antimikroba tersebut berkhasiat untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji dan tidak mematikan bakteri sehingga dalam waktu 48 jam daerah hambatan kembali ditumbuhi bakteri (13). Dengan demikian terjadi penurunan diameter hambatan terhadap bakteri tersebut.

Meskipun diameter zona hambatan terbesar terdapat pada ekstrak kasar (24 jam = 17,43 mm) dan untuk fraksinasi protein terdapat pada tingkat fraksi 0 – 20 % (24 jam = 14,43 mm) menunjukkan diameter hambatan yang lebih kecil daripada kontrol positif yaitu 19,50 mm, tetapi hal ini bukan berarti bahwa ekstrak kasar dan fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* ini tidak efektif digunakan sebagai bahan antimikroba, hal ini sesuai dengan literatur bahwa suatu antibiotik dapat dinilai efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri apabila diameter hambatan yang ditunjukkan adalah ≥ 14 mm (14). Sedangkan untuk fraksi protein berturut-turut fraksi 0 – 20 % (48 jam = 13,27 mm), fraksi 20–40 % (24 jam = 11,60 mm; 48 jam = 11,20 mm), fraksi 40–60 % (24 jam = 11,50 mm; 48 jam = 11,37 mm), fraksi 60–80 % (24 jam = 13,30 mm) bersifat kurang efektif, sesuai dengan pustaka apabila diameter hambatnya 10 – 11 mm bersifat kurang efektif, dan fraksi 60 – 80 % (48 jam = 9,97 mm) bersifat tidak efektif, apabila diameter hambatannya ≤ 9 mm suatu antibiotika dinilai tidak efektif.

Kontrol positif memiliki diameter zona hambatan sebesar 19,50 mm pada masa inkubasi 24 jam dan cenderung menurun pada masa inkubasi 48 jam menjadi 19,27 mm. Hal ini juga sesuai dengan pustaka bahwa diameter zona hambatan antibiotik, dalam hal ini kloramfenikol sebagai kontrol positif yang sensitif atau efektif digunakan adalah memiliki diameter zona hambatan ≥ 17 mm setelah masa inkubasi 24 jam (14). Sedangkan pada kontrol negatif sama sekali tidak terdapat zona hambatan (ukuran 6,00 mm pada data merupakan diameter *paper disc*).

Bioaktivitas Antibakteri Fraksi Protein Alga Merah Terhadap Bakteri Uji *Salmonella thypi*

Diameter zona hambatan berbagai tingkat kejenuhan fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* terhadap bakteri uji *Salmonella typhi* setelah masa inkubasi 24 jam dan 48 jam dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Bioaktivitas fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* terhadap *Salmonella typhi* selama 24 jam dan 48 jam

Fraksi Protein	Rata-rata Diameter Hambatan (mm)	
	24 jam	48 jam
Ekstrak Kasar	13,63	16,30
0-20%	11,43	13,27
20-40%	11,60	13,20
40-60%	12,37	14,40
60-80%	9,97	10,80
Kontrol (+)	19,90	19,60
Kontrol (-)	6,00	6,00

Keterangan :
K (+) : Kontrol + menggunakan Kloramfenikol
K (-) : Kontrol – menggunakan larutan BSA

Berdasarkan data pada Tabel 3, diameter zona hambatan ekstrak kasar dan fraksi protein alga merah *Gelidium amansii* yang terbentuk pada masa inkubasi 24 jam meningkat setelah masa inkubasi 48 jam. Diameter zona hambatan ekstrak kasar meningkat dari 13,63 mm menjadi 16,30 mm. Diameter pada fraksi protein 0 – 20 % yang awalnya sebesar 11,43 mm meningkat menjadi 13,27 mm. Begitu pula pada fraksi protein 20–40% yang awalnya berdiameter 11,60 mm meningkat menjadi 13,20 mm dan pada fraksi protein 40–60% juga meningkat dari 12,37 mm menjadi 14,40 mm. Demikian juga terjadi pada fraksi protein 60 – 80 % juga meningkat dari 9,97 mm menjadi 10,80 mm.

Hal ini menunjukkan bahwa fraksi protein alga merah *Gelidium amansii* untuk bakteri uji *Salmonella thypi* bersifat bakterisida karena setelah diinkubasi selama 48 jam, diameter zona hambatannya bertambah. Bakterisida diartikan sebagai bahan yang mematikan bakteri (15). Bakterisida pada umumnya menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel, menggumpalkan protein bakteri karena adanya perbedaan, keasaman, serta hidrolisis dan difusi cairan sel yang menyebabkan perbedaan tekanan osmosis.

Diameter zona hambatan terbesar terdapat pada ekstrak kasar (48 jam = 16,30 mm) dan untuk fraksi protein terdapat pada tingkat fraksi 40–60 % (48 jam = 14,40 mm) yang menunjukkan diameter hambatan lebih kecil daripada kontrol positif yaitu 19,60 mm, tetapi hal ini bukan berarti bahwa ekstrak kasar dan fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* ini tidak efektif digunakan sebagai bahan antimikroba. Hal ini sesuai dengan pustaka bahwa suatu anti-biotik dapat dinilai efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri apabila diameter hambatan yang ditunjukkan adalah ≥14 mm (14). Sedangkan untuk fraksi protein berturut-turut 0 – 20 % (24 jam = 11,43 mm; 48 jam = 13,27 mm), 20 – 40 % (24 jam = 11,60 mm; 48 jam = 13,20 mm), 40–60 % (24 jam = 12,37 mm), 60–80% (48 jam = 10,80 mm) bersifat kurang efektif, sesuai dengan pustaka bahwa apabila diameter hambatannya 10 – 11 mm bersifat kurang efektif. Sedangkan untuk fraksi 60 – 80 % (48 jam = 9,97 mm) bersifat tidak efektif, sesuai dengan pustaka, apabila diameter hambatannya ≤ 9 mm suatu antibiotika dinilai tidak efektif (14).

Kontrol positif memiliki diameter zona hambatan sebesar 19,60 mm pada masa inkubasi 24 jam dan cenderung menurun pada masa inkubasi 48 jam menjadi 17,70 mm. Hal ini sesuai dengan pustaka bahwa diameter zona hambatan antibiotik, dalam hal ini kloramfenikol, sebagai kontrol positif yang sensitif atau efektif digunakan adalah memiliki diameter zona hambatan ≥ 17 mm setelah masa inkubasi 24 jam (14). Sedangkan pada kontrol negatif sama sekali tidak terdapat zona hambatan (ukuran 6,00 mm pada data merupakan diameter *paper disc*).

Berdasarkan hasil pengukuran, diameter zona hambatan yang ditunjukkan ekstrak kasar terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* lebih tinggi dibandingkan dengan diameter zona hambat fraksi protein yang lainnya, kemungkinan hal ini disebabkan oleh adanya akumulasi berbagai senyawa yang bersifat polar dan senyawa protein pada ekstrak kasar.

Tiap fraksi protein memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini diduga karena senyawa aktif pada alga merah *Gelidium amansii* telah terbagi-bagi ke dalam tiap fraksi yang diperoleh. Pengaruh ini dapat bersifat aditif atau sinergis di antara senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar. Selain itu, hal ini juga kemungkinan ditimbulkan oleh resistensi dari bakteri terhadap substansi bioaktif, kadar substansi aktif serta jumlah inokulum bakteri atau kepadatan bakteri uji. Di samping itu, ditemukan adanya fraksi yang kurang efektif dalam menghambat bakteri, karena difusi bahan aktif pada medium yang berlangsung lambat dan rendahnya konsentrasi kandungan zat aktif, sehingga fraksi tersebut tidak dapat meng-hambat bakteri secara optimal (14).

Faktor-faktor dapat mempengaruhi besarnya zona hambatan antara lain kepekaan pertumbuhan, reaksi antara bahan aktif dengan medium dan suhu inkubasi, pH lingkungan, komponen media, stabilitas obat, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganisme (16).

Kemampuan biologis setiap bakteri juga berbeda-beda dalam merespon bahan antibakteri. Salah satu faktor yang paling berpengaruh adalah perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Komponen khusus yang dimiliki oleh bakteri gram positif adalah terdiri atas komponen asam teikhioat, asam teikhuronat, dan polisakarida. Sedangkan komponen khusus bakteri gram negatif terdiri atas lipoprotein, selaput luar, dan lipopolisakarida. Selaput luar dinding sel bakteri gram negatif merupakan selaput ganda fosfolipid yang sebagian besar diganti dengan molekul lipopolisakarida. Selaput luar mempunyai sifat permeabilitas terhadap zat terlarut bermolekul rendah sehingga zat aktif yang ada tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri, akibatnya bakteri lebih sukar dirusak atau dihambat pertumbuhannya.

KESIMPULAN

Fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* yang diperoleh melalui fraksinasi mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus.* Bioaktivitas antibakteri terbesar fraksi protein dari alga merah *Gelidium amansii* terhadap *Staphylococcus aureus* terdapat pada fraksi 0-20% dengan daerah hambatan sebesar 14,43 mm dan bersifat bakteriostatik.

SARAN-SARAN

Perlu dilakukan uji antimikroba terhadap bakteri dan jamur patogen yang lain serta mempelajari kemungkinan adanya sifat antikanker baik dari senyawa protein maupun dari senyawa nonpolar yang diisolasi dari alga merah. Di samping itu perlu dilakukan karakterisasi dan elusidasi struktur dari senyawa bioaktif yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ireland, C.M., Roll, D.M., Molinski, T.F., Mckee, T.C., Zabriskie, T.M. and Swersy, J.C., 1988, Uniquenness of The Marine Chemical Environment: Categories of Marine Natural Products from Invertebrates. In : Biomedical Importance of Marine Organisms (memoirs of california academy of sciences number 13), Fautin, D. G., Ed., California Academy of Sciences, San Francisco, 41.
2. Caraan, G.B., Lazaro, J.E., and Concepcio, G.P., 1994, *Biologycal Assays for Screening of Marine Samples*, Second Marine Natural Product Workshop, Marine Science Institute and Institute of Chemistry, University of the Philippines, Philippines.
3. Nybakken, J.W., 1993, *Marine Biology*, 3rd Ed., Harper Collins College.
4. Rismana, E. 2001. *Biota Laut Berpotensi Besar Jadi Sumber Bahan Baku Obat dari Industri Farmasi*, (On line), diakses 25 Januari 2008).
5. Anonymous. 2006, *Rumput Laut Alternatif Yang Menguntungkan*. Situs Kedai Iptek PKT – BPPT.
6. Putra, S.E., 2006, *Alga Laut Sebagai Biotarget Industri*, Situs Web Kimia Indonesia.
7. Ahmad, A., Prastawa, B. dan Salama, D. 2006. Bioaktivitas antimikroba dan antikanker fraksi protein yang diisolasi dari beberapa spesies makro alga di pulau Barang Lompo Sulawesi Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Research Grant TPSDP Batch II*, Bali.
8. Soriano, F., Huelves, L., Naves P., Rodríguez-Cerrato, V., del Prado G., Ruiz V., and Ponte C. 2009. In vitro activity of ciprofloxacin, moxifloxacin, vancomycin and erythromycin against planktonic and biofilm forms of *Corynebacterium urealyticum*. *J Antimicrob Chemother*. 63, 353-356.
9. Wiwin, D., 2004, *Penemu Senyawa Antimikroba dari Rumput Laut*, (http://roemahherba.net/index.php?option=content&task=view&id=261&Itemid=2&phpshop=ce6bf18f144216158f0291793a6a02e0), diakses 6 Desember 2007.
10. Anonymous. 2006, *Komoditi Rumput Laut Indonesia:* Kajian singkat, PT. Bank Eksport Indonesia, Persero.
11. Val, A.G., Platas, G., Basilio, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Rio, M. J., Reina, G.G., Palaez, F., 2001, *Screening of Antimicrobial Activities in Red, Green, and Brown Macroalgae from Gran Canaria*, Spanyol, (Online), (http://www.im.microbios.org, diakses September 2007)
12. Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi, 2003, *Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta.
13. Wattimena, J.R. 1991. *Farmakodinamik Dan Terapi Antibiotik*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
14. Cappuccino, J.G., dan Sherman, N. 1978. *Microbiology A Laboratory Manual.* Rockland Community College. Suffern, New York.
15. Pelczar, M.J. and Chan, E.C.S. 1988, *Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid 1,* diterjemahkan oleh Hadioetomo, R.S., UI Press, Jakarta, 138.
16. Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Ornston, L.N., 1996. *Mikrobiologi Kedokteran.* Ed.20, Alih Bahasa Edi Nugroho, R.F. Maulany, EGC. Jakarta