

Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu

Munifatul Izzati

Laboratorium Struktur dan fungsi tumbuhan

Abstract

Antibacterial activity of several local seaweeds has been screened. Most of these seaweeds species show antibacterial properties against pathogenic bacteria from species of *Vibrio* and *Pseudomonas*. The activity of seaweeds extracts were determined by type of solvent used in extraction. Respond of each pathogenic bacteria were also different to each type of extract. Most seaweeds show stronger activity against *Pseudomonas* rather than *Vibrio*. *Caulerpa* and *Padina* were more active against *Pseudomonas* compared to *Sargassum* and *Gelidium*. Compared to other seaweeds, *Sargassum* and *Gelidium* were more active against *Vibrio*. It is predicted that *Sargassum* is the the most suitable to be used in polyculture with tiger shrimp (*Penaeus monodon*), as this is the most active against the most dangerous pathogenic bacteria, *Vibrio harveyi*. Beside that, the active component of *Sargassum* is solved in water, therefore will be easier to diffuse into shrimp pond.

Keywords: Seaweeds, antibacterial activity, pathogenic bacteria, polyculture.

PENDAHULUAN:

Kecenderungan menurunnya produksi udang windu di perairan tambak adalah merebaknya penyakit pada udang yang disebabkan oleh bakteri bakteri patogen. Penambahan antibiotik kedalam perairan tambak akan menimbulkan kekebalan. Disamping itu, kandungan antibiotic pada komoditas udang menyebabkan jatuhnya harga udang di pasaran internasional. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian untuk mencari alternatif lain dalam mengatasi merebaknya penyakit udang windu. Salah satu cara adalah dengan menguji kemampuan rumput laut dalam menghasilkan senyawa antibakteri alami.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan rumput laut dalam menghasilkan senyawa antibakteri. Hasil pengujian ini dapat dikembangkan untuk mendapatkan jenis rumput laut yang tepat untuk digunakan sebagai model budidaya ganda dengan udang windu. Keberadaan rumput laut penghasil antibakteri ini diharapkan dapat menurunkan jumlah bakteri patogen, sehingga mampu menurunkan kemungkinan berkembangnya penyakit yang menyerang udang windu.

BAHAN DAN METODE

a. Penelitian pendahuluan:

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk menguji aktivitas ekstrak rumput laut yang difokuskan pada genus *Halimeda*. Spesies ini dipilih, karena dari berbagai penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Halimeda* mengandung senyawa halimedatrial yang aktif terhadap bakteri patogen *Vibrio harveyi*.

a.1. Lokasi, Persiapan penelitian dan ekstraksi:

Penelitian ini dilaksanakan di 3 laboratorium, yaitu: a) Laboratorium Pengembangan Wilayah Pantai (LPWP) Undip, Jepara; b) Laboratorium Hama dan Penyakit di Balai Budidaya Air Payau (BBAP), Jepara. Dan c) Laboratorium PAU, ILMu Hayati, ITB, Bandung. Rumput laut *Halimieda* yang diteliti diambil dari perairan sekitar pulau Panjang, Jepara. Lokasi ini dipilih karena dekat dengan laboratorium baik di Laboratorium Penembangan Wilayah Pantai, Universitas Diponegoro maupun di Balai Budidaya Air Payau (BBAP), Jepara. Pertimbangan lainnya adalah kondisi perairan laut yang relatif lebih bersih, sehingga *Halimeda* tumbuh melimpah. Sebelum diekstraksi, *Halimeda* terlebih dahulu di bersihkan dengan menggunakan air. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk membersihkan dari garam dan parasit yang menempel. Ekstraksi dilakukan dengan

menggunakan 2 macam pelarut yaitu eter dan air. Pelarut eter dipilih karena menurut Harborne (1991) senyawa terpenoid larut dalam eter, sedangkan pelarut air dilakukan untuk menguji kemungkinan keberadaan senyawa terpenoid bentuk glikosida yang larut dalam air. Sebelum diekstraksi *Halimeda* direndam dalam air selama 24 jam, kemudian dicuci dan dijemur hingga kering. Ekstraksi dilakukan menurut metode yang telah dikerjakan oleh Vidayati dan Sridhar (1991), yaitu 200 gram *Halimeda* dilarutkan dalam 2 liter pelarut. Ekstraksi dalam eter dilakukan dengan menggunakan ekstraktor soxhlet, sedangkan pelarutan dalam air dilakukan dengan pemanasan pada suhu 60°C. Ekstrak *Halimeda* kemudian diuapkan sampai kerig pada suhu 55 °C (Vidayati dan Sridhar, 1991).

b. Uji aktivitas ekstrak *Halimeda* terhadap *Vibrio harveyi*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit BBAP, Jepara. Ekstraksi *Halimeda* kering dilarutkan kembali dalam methanol, selanjutnya larutan diuji aktivitasnya terhadap *V. harveyi* dengan menggunakan metode difusi standar. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mencari nilai MIC (Minimal Inhibitory Concentration) dari ekstrak *Halimeda*. Prosedur pengujian aktivitas ekstrak *Halimeda* terhadap *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut:

1. Pelarutan kembali ekstrak *Halimeda* dengan menggunakan metanol. Sebanyak satu gram ekstrak *Halimeda* dilarutkan dalam 1000 ml metanol (1000 mg/l). Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi antara 1 mg/l hingga 1000 mg/l.
2. Perendaman cakram uji dalam larutan ekstrak dengan konsentrasi bervariasi. Variasi konsentrasi adalah 0 mg/l; 10 mg/l; 100 mg/l; dan 1000 mg/l. Pertimbangan dalam menggunakan variasi konsentrasi tersebut adalah penelitian serupa dengan rumput laut *Caulerpa* sp yang telah dilakukan oleh BBAP menunjukkan bahwa nilai MIC nya adalah 1000 mg/l.

3. Pengeringan kembali cakram yang telah direndam dalam berbagai konsentrasi ekstrak tersebut. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan metanol dari cakram pengujian. Bakteri pathogen *Vibrio harveyi* yang digunakan adalah kultur murni koleksi Laboratorium Mikrobiologi, BBAP Jepara. Prosedur pengujian aktivitas dikerjakan dengan metode difusi standar menurut Vidayati dan Sridhar (1991) dengan 5 ulangan pada setiap perlakuan. Pengamatan dilakukan terhadap diameter zona jernih yang timbul disekitar cakram uji.

c. Penyempurnaan metode ekstraksi *Halimeda*.

Penyempurnaan metode ekstraksi ini diperlukan apabila hasil pengujian tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Selanjutnya, disempurnakan dengan metode ekstraksi bertingkat. Prosedur ini dimulai dengan ekstraksi rumput laut *Halimeda* sp dalam pelarut non polar, yaitu dengan menggunakan larutan normal heksan, diikuti dengan pelarut semi polar dengan menggunakan metilen klorid (MTC). Ekstraksi diakhiri dengan pelarut polar etanol. Ketiga jenis ekstrak yang dihasilkan selanjutnya diuapkan hingga tinggal ekstrak padat, kemudian diencarkan kembali dengan pelarut masing masing. Selanjutnya dibuat berbagai macam konsentrasi mulai dari 1 mg/l, 10 mg/l; 100 mg/l dan 1000 mg/l. Kedalam pelarut tersebut dimasukkan cakram uji yang telah disterilkan dengan menggunakan oven. Setelah dikeringkan, cakram diujikan terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, dengan menggunakan metode difusi standar. *Vibrio* ditanam pada media khusus untuk *Vibrio harveyi* pada cawan Petri. Cakram yang telah direndam dalam masing masing ekstrak kemudian dikeringkan. Sebanyak tiga buah cakram diletakkan pada media yang telah ditanami dengan *Vibrio harveyi*. Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran terhadap zona jernih yang ada disekitar cakram.

d. Eksplorasi Senyawa Aktif dari 5 spesies rumput laut

Tahap ini dilaksanakan dalam rangka mencari kemungkinan adanya senyawa antibakteri

pada spesies rumput laut lainnya. Jenis jenis rumput laut yang diuji adalah *Halimeda* sp; *Caulerpa racemosa*; *Padina* sp; *Sargassum* sp dan *Gelidium* sp. Semua rumput laut tersebut tumbuh pada kedalaman 1 – 2 m, di sekitar perairan pantai Jepara. Rumput laut yang diperoleh dibersihkan dari kotoran dan organisme dengan menggunakan air laut. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 2 macam pelarut, yaitu air dan metanol. Pengujian ekstrak lima spesies rumput laut tersebut dilakukan terhadap 8 (delapan) jenis bakteri patogen, menggunakan metode difusi standar.

e. Uji aktivitas ekstrak *Sargassum* dan *Padina* kering

Karena dari hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Sargassum* dan *Padina* adalah jenis rumput laut yang mempunyai aktivitas antibakteri relatif lebih tinggi dibanding jenis lainnya, maka selanjutnya dilakukan pengujian terhadap ekstrak kering dari kedua jenis rumput laut tersebut. *Sargassum* dan *Padina* dibersihkan dan dijemur hingga kering. Sampel kering kemudian diekstraksi dengan menggunakan 2 macam pelarut, yaitu air dan metanol. Dengan demikian terdapat empat (4) macam pengujian sebagai berikut: a) ekstrak air dari *Sargassum* kering, b) ekstrak metanol dari *Sargassum* kering, c) ekstrak air dari *Padina* kering dan ekstrak methanol dari *Padina* kering.

Semua ekstrak tersebut diuji aktivitasnya terhadap 8 jenis bakteri patogen, yaitu *Vibrio harveyi*, *Vibrio albensis*, *Vibrio anguila*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas pavanaceae*, *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas syntata* dan *Pseudomonas tetrolens*. Setelah diinkubasikan selama 24 jam, dilakukan pengamatan terhadap aktivitas masing masing ekstrak dengan mengukur diameter daerah jernih (zona hambatan) yang timbul disekitar cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil penelitian pendahuluan:

a.1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Halimeda*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut *Halimeda* baik dengan pelarut kloroform maupun eter tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio*

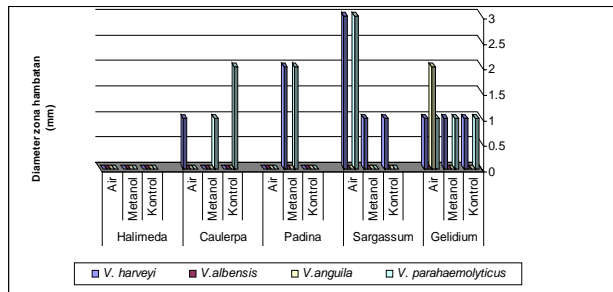
harveyi. *Vibrio harveyi* tahan terhadap semua konsentrasi ekstrak, mulai dari 1 mg/l hingga 1000 mg/l. Pengujian ekstrak dengan pelarut air *Halimeda* juga menunjukkan tidak ada aktivitas antibakteri terhadap *V. harveyi*. *V. harveyi* tahan terhadap semua konsentrasi ekstrak air dari rumput laut *Halimeda*.

Dari hasil pengujian ini dapat disimpulkan bahwa baik ekstrak kloroform, eter maupun ekstrak air dari *Halimeda* tidak mengandung senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Demikian juga dari hasil pengujian terhadap aktivitas ekstrak *Halimeda* dengan metode ekstraksi bertingkat.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak ada aktivitas antibakteri pada semua ekstrak rumput laut *Halimeda* sp. *Vibrio harveyi* tahan terhadap ekstrak *Halimeda* dalam pelarut normal heksan, metilen klorid dan etanol pada semua tingkat konsentrasi. Dengan demikian, dapat simpulkan bahwa ekstrak *Halimeda* dalam semua jenis pelarut tersebut tidak mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi*.

b. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak beberapa rumput laut terhadap bakteri patogen

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *Halimeda* tidak mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, oleh karena itu penelitian selanjutnya dikembangkan dengan menguji aktivitas ekstrak dari lima spesies rumput laut yang lain terhadap 8 spesies bakteri patogen. Spesies rumput laut yang diuji aktivitasnya adalah *Halimeda macroloba*, *Caulerpa racemosa*, *Padina* sp, *Sargassum polycistum* dan *Gelidium* sp. Pengujian dilakukan terhadap bakteri patogen *Vibrio harveyi*, *Vibrio albensis*, *Vibrio anguila*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas pavanaceae*, *Pseudomonas syntata*, *Pseudomonas denitrificans* dan *Pseudomonas trrolens*. Hasil pengujian terhadap beberapa spesies dari genus *Vibrio* tersebut dapat dilihat pada grafik 1.

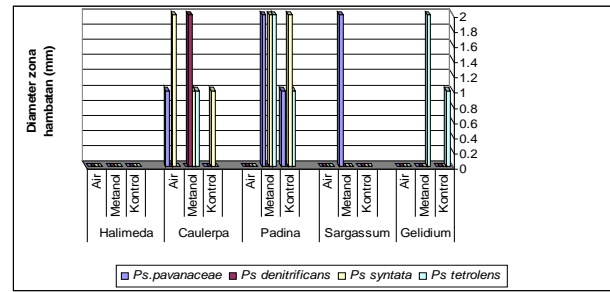


Grafik 1. Diameter zona hambatan hasil uji aktivitas ekstrak rumput laut terhadap beberapa spesies bakteri patogen kelompok *Vibrio*.

Secara umum, hasil pengujian menunjukkan bahwa *Halimeda* tidak mempunyai aktivitas menghambat terhadap pertumbuhan semua jenis bakteri *Vibrio* yang diuji. Ekstrak rumput laut *Caulerpa* sp mempunyai aktivitas menghambat terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio anguila* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Zat aktif dalam *Caulerpa* sp terdapat pada ekstrak air maupun metanol.

Hasil pengamatan selanjutnya menunjukkan bahwa ekstrak *Padina* aktif terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Zat aktif dari *Sargassum* terdapat baik pada ekstrak air maupun ekstrak metanol. Sedangkan ekstrak rumput laut *Gelidium* sp mempunyai aktivitas menghambat *Vibrio harveyi*, *Vibrio anguila* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Zat aktif dalam *Gelidium* sp terdapat baik pada ekstrak air maupun metanol.

Dari hasil pengujian ini dapat disimpulkan bahwa rumput laut *Sargassum* sp cocok/dapat dikembangkan untuk budidaya ganda dengan udang windu, karena ekstrak *Sargassum* aktif terhadap dua spesies bakteri *Vibrio* yang diuji. Disamping itu, aktivitas ekstrak *Sargassum* lebih tinggi dengan ditunjukkan zona hambatannya yang lebih luas dibanding dengan ekstrak rumput laut lainnya. Pengujian aktivitas rumput laut juga dilakukan terhadap beberapa jenis bakteri patogen dari genus *Pseudomonas*. Hasil pengujian ekstrak rumput laut terhadap beberapa spesies *Pseudomonas* dapat dilihat pada grafik 2. *Pseudomonas*



Grafik 2. Diameter zona hambatan hasil uji aktivitas ekstrak rumput laut terhadap beberapa spesies bakteri patogen kelompok *Pseudomonas*

Secara umum, hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Halimeda* tidak mempunyai aktivitas terhadap semua bakteri yang diuji. Ekstrak air dari *Caulerpa* aktif terhadap *Pseudomonas pavanaceae* dan *Pseudomonas syntata*, sedangkan ekstrak metanol aktif terhadap *Pseudomonas denitrificans* dan *Pseudomonas syntata*, ekstrak air rumput laut *Padina* tidak dapat menghambat pertumbuhan semua spesies *Pseudomonas* yang diuji. Sementara itu, ekstrak methanol dari *Padina* aktif terhadap *Pseudomonas pavanaceae*, *Pseudomonas syntata* dan *Pseudomonas tetrolens*. Ekstrak air dari *Sargassum* tidak mempunyai aktivitas terhadap semua spesies *Pseudomonas* yang diuji, sedangkan ekstrak metanol aktif terhadap *Pseudomonas pavanaceae* sedangkan ekstrak metanol *Gelidium* aktif terhadap *Pseudomonas tetrolens*.

Dari hasil pengujian ekstrak rumput laut terhadap bakteri *Pseudomonas* dapat disimpulkan bahwa rumput laut yang cocok dikembangkan untuk budidaya ganda dengan udang windu adalah *Padina* sp. Kesimpulan ini diambil berdasarkan hasil pengujian yang menunjukkan aktivitas ekstrak *Padina* terhadap 3 jenis bakteri, yaitu *Pseudomonas pavanaceae*, *Pseudomonas syntata* dan *Pseudomonas tetrolens*. *Caulerpa* sp juga mempunyai aktivitas ekstrak terhadap 3 jenis bakteri *Pseudomonas*, akan tetapi kekuatan ekstrak *Caulerpa* diperkirakan lebih tinggi, karena daerah zona hambatan yang dihasilkan oleh *Padina* sp lebih luas dibanding dengan *Caulerpa* sp.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jenis rumput laut yang efektif untuk menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* adalah *Sargassum* sp dan *Padina* sp yang efektif untuk

menekan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas*. Selanjutnya, jenis rumput laut yang akan diteliti untuk digunakan dalam budidaya ganda dengan udang windu adalah *Sargassum*. Alasan pemilihan *Sargassum* diantaranya karena senyawa aktif terdapat dalam ekstrak air sehingga lebih mudah terlarut dalam perairan tambak. Disamping itu, ekstrak *Sargassum* dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi*. Bakteri ini merupakan penyebab penyakit kunang kunang, yang paling berbahaya bagi udang windu. Alasan lain, yang tidak kalah penting adalah melimpahnya *Sargassum* di perairan laut di seluruh Indonesia dan ukuran *Sargassum* yang lebih besar dibanding dengan *Padina*. Hal ini akan mempermudah dalam teknik budidaya di perairan tambak.

Sargassum memproduksi beberapa jenis senyawa sekunder, seperti florotanin (Keusgen dkk., 1997), steroid dan sterol (Faulkner, 1984). Menurut Hay dan Fenical (1988), florotanin mempunyai sifat antibakteri. Florotanin bersifat polar, sehingga larut dalam air dan bersifat tidak stabil (Glombitza Dan Keusgen, 1995). Berdasarkan pada hasil pengujian yang telah dilakukan, dapat diduga bahwa senyawa aktif dalam ekstrak air dari *Sargassum* adalah florotanin.

c. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak *Sargassum* dan *Padina* kering

Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak beberapa jenis rumput laut menunjukkan bahwa *Sargassum* dan *Padina* adalah jenis rumput laut yang dapat menghasilkan senyawa antibakteri. Senyawa aktif pada *Sargassum* larut dalam air, sedangkan pada *Padina* larut dalam pelarut metanol. Kedua jenis rumput laut ini dikembangkan sebagai sumber antibakteri. Akan tetapi, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum* dan *Padina* yang telah dikeringkan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Senyawa antibakteri yang terdapat pada *Sargassum* dan *Padina* bersifat tidak stabil. Hal ini sesuai dengan hasil beberapa penelitian tentang senyawa bioaktif dari rumput laut yang pada umumnya melakukan ekstraksi terhadap sampel segar (Ballantine *et al.*, Paul dan Fenical, 1984, Rachmaniar, 1992). Paul dan Fenical (1984), menyatakan bahwa senyawa bioaktif pada

Halimeda, *halimedatrial* mengalami degradasi yang nyata, meskipun telah disimpan sebagai ekstrak kasar dalam pelarut metilen klorid. Dengan demikian dapat diduga bahwa senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum* dan *Padina* juga mengalami perubahan setelah proses pengeringan, sehingga ekstrak menjadi tidak aktif.

KESIMPULAN

Beberapa spesies rumput laut yang tumbuh di perairan pantai Jepara terbukti menghasilkan senyawa antibakteri yang aktif terhadap beberapa spesies bakteri patogen yang sering menyerang udang windu. Rumput laut *Caulerpa* sp, *Padina* sp, *Sargassum polycistum* dan *Gelidium* sp menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri tersebut berbeda beda tergantung pada jenis pelarut yang digunakan untuk ekstraksi. Respon bakteri patogen terhadap berbagai ekstrak dalam berbagai pelarut juga berbeda. Ekstrak rumput laut *Halimeda* sp dalam semua jenis pelarut tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri *Vibrio* maupun *Pseudomonas*. Ekstrak rumput laut yang paling aktif terhadap bakteri *Pseudomonas* adalah *Padina* dan *Caulerpa* sp, sedangkan *Sargassum polycistum* dan *Gelidium* sp paling aktif menghambat pertumbuhan bakteri dari spesies *Vibrio*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ballantine, D.L., W.H. Gerwick dan S.M. Velez (1987): Antibiotic activity of lipid soluble extract from caribbean marine algae. *Hydrobiologia* 151/152: 463 – 469.
- Faulkner D.J. (1984). Marine natural products. Metabolites of marine algae and herbivorous marine mollusk. *Nat. prod. Rep* 1: 256-260
- Glombitza K.W. dan M. Keusgen (1995): Fuhalols and dehydroxyfuhalols from the brown alga *Sargassum spinoligerum*. *Phytochemistry* Vol 38: No 4: 987-995.
- Harborne J.B. (1987). metode kimia. penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Terbitan Kedua. Penerbit ITB, Bandung.

- Hay, M.E. dan Fenical W. (1988). Marine plant herbivore interactions: the ecology of chemical defense. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 19: 111-145.
- Keusgen M., M Falk., J.A. Walyrt, K.W. Glombitza (1997): A Phloroglucinol derivative from brown alga, *Sargassum spinuligerum*. *Journal of Chemical Ecology* Vol 22: No 10: 34-39.
- Paul V.J. dan Fenical W. (1984): Isolation of halimedatrial: chemical defense adaptation in calcareous reef building alga, *Halimeda*. *Science* 221: 747-748.
- Vidayanti N dan Sridhar K.R. (1991): Seasonal and geographical variations in the microbial activity of seaweeds from mangrove coast of India. *Botanica Marina* 34:279-284.