

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR SPONS *Agelas clathrodes* TERHADAP BAKTERI PATOGENIK IKAN *Vibrio parahaemolyticus*

Deidy Azhari¹⁾, Asri M. Makisake¹⁾, Aprilia M. Tomaso¹⁾, Geric Lumiu²⁾, Walter Balansa¹⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Budidaya Ikan, Jurusan Perikanan dan Kebaharian,
Politeknik Negeri Nusa Utara, Tahuna, Indonesia.

²⁾Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Tahuna
walterbalansa1@gmail.com

Abstrak: Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri patogenik Gram negatif yang tersebar luas di lingkungan laut dan estuari di seluruh dunia. Pada ikan, strain *V. parahaemolyticus* patogenik menyebabkan vibrosis dengan dampak seperti kematian 100% pada larva maupun ikan-ikan budidaya ukuran konsumsi sedangkan pada manusia dapat menyebabkan gastroenteritis atau diare akut. Salah satu upaya untuk mengatasi masalah infeksi bakteri strain *V. parahaemolyticus* patogenik ini adalah antibiotik. Pada kenyataannya penggunaan antibiotik dapat meningkatkan kasus resistensi antibiotik. Krisis resistensi antibiotik telah memunculkan kesadaran menggunakan antibiotik dari bahan alami untuk mengobati penyakit ikan, hewan lainnya atau manusia salah satunya dari ekstrak spons *A. clathrodes*. Itulah sebabnya, dalam penelitian ini aktivitas antibakteri spons *A. clathrodes* akan diuji terhadap bakteri patogen ikan *V. parahaemolyticus*. Pengujian akan menggunakan media TSA yang dikultur dengan biakan *V. parahaemolyticus*. Kertas cakram ditempatkan pada media kemudian ditetesi dengan 60 μ L perlakuan (ekstark 1.0, 10.0, 100.0 mg/mL; tetrasiklin; methanol), setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Hasil pengukuran zona hambat kemudian dievaluasi dengan mengkategorikan zona hambat sebagai berikut <9 mm (tidak aktif), 9-12 mm (kurang aktif), 13-18 mm (aktif) dan >18 mm (sangat aktif) dan ditabulasikan pada sebuah tabel. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antibakteri *A. clathrodes* terhadap *V. parahaemolyticus* bertambah dengan naiknya konsentrasi. Meskipun zona hambat pada tiga konsentrasi masih lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat dari antibiotik pembanding, zona hambat ekstrak-ekstrak kasar itu tergolong sangat aktif.

Kata kunci: antibiotik, *Vibrio*, patogen, spons, *Agelas*

PENDAHULUAN

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri patogenik Gram negatif yang tersebar luas di lingkungan laut dan estuari di seluruh dunia (Wu *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014). Meskipun sebagian strain *V. parahaemolyticus* bukan patogen (Ragunath, 2015), strain-strain dengan gen *tdh* (*thermostable direct hemolysin*) dan *trh* (*thd related hemolysin*) bersifat patogenik (Letchumanan *et al.*, 2015). Kedua gen pada *V. parahaemolyticus* ini adalah penyebab penyakit pada manusia dan ikan (Gutierrez *et al.*, 2011). Jika menginfeksi ikan, strain patogenik menyebabkan vibrosis dengan dampak seperti kematian 100% pada larva maupun ikan-ikan budidaya ukuran konsumsi (Irianto, 2005). Selain menyebabkan kasus infeksi terbesar pada ikan-ikan budidaya di Karibia (Toranzo, 2005), strain-strain *V. parahaemolyticus* patogenik juga telah menjadi pandemik dan penyebab utama gastroenteritis atau diare akut pada manusia (Ragunath, 2015).

Untuk mengobati infeksi *V. parahaemolyticus*, pembudidaya-pembudidaya ikan mengandalkan antibiotik (Waturangi, 2000; Cabello *et al.*, 2013) seperti oxytetracycline, tetracycline, quinolones, sulphonamides dan trimethoprim (Yano *et al.*, 2014). Masalahnya, penggunaan antibiotik sintetik secara intensif, luas dan tak terkendali telah memicu resistensi/kekebalan sejumlah besar bakteri termasuk *V. parahaemolyticus* terhadap berbagai antibiotik sintetik (Patricia & David, 2013). Selain berdampak buruk bagi lingkungan, kelangsungan hidup ikan dan kesehatan manusia (Bharti *et al.*, 2015), resistensi antibiotik turut memicu jatuhnya harga produk-produk perikanan di pasar internasional akibat residu antibiotik (Astuti *et al.*, 2003). Ironisnya, sementara penemuan antibiotik baru terus berkurang (Tommasi, 2015), tingkat resistensi bakteri *vibrio* terhadap berbagai antibiotik terbanyak digunakan untuk tujuan klinis terus bertambah (Letchumanan *et al.*, 2015).

Krisis resistensi antibiotik telah memunculkan kesadaran menggunakan antibiotik dari bahan alami untuk mengobati penyakit ikan, hewan lainnya atau manusia. Alasan utama ialah antibiotik dari bahan alami mudah terurai dan tidak meninggalkan residu (Abbas & Abbas, 2011). Selain itu, bahan-bahan alami, termasuk dari spons, memiliki kemampuan spesifik untuk menembus dinding sel bakteri sehingga merupakan sumber bahan-

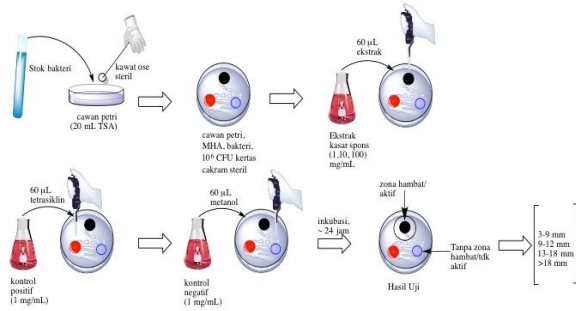
bahan antibakteri alami pontesial (Tommasi *et al.*, 2015).

Penelitian ini bertujuan menguji aktivitas antibakteri spons *A. clathrodes* terhadap bakteri patogen ikan *V. parahaemolyticus*. Meningkatnya resistensi *V. parahaemolyticus* terhadap antibiotik yang banyak dipakai untuk keperluan klinis (Letchumanan *et al.*, 2015) maupun budidaya ikan (Yano *et al.*, 2014) merupakan pengingat penting dan mendesaknya penemuan bahan-bahan antibiotik alami baru. Pengujian aktivitas antibakteri *A. clathrodes* dari perairan Kabupaten Kepulauan Sangihe terhadap *V. parahaemolyticus* akan berperan penting bukan saja dalam mendukung upaya penemuan antibiotik baru tetapi juga untuk pemanfaatan sumberdaya laut lokal.

METODE

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri spons *Agelas clathrodes* terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*, dilakukan beberapa persiapan dan pengujian. Bakteri *V. parahaemolyticus* diperoleh dari BKIPN kelas II Tahuna dan pengujian dilakukan di laboratorium BKIPN. Media pertumbuhan untuk bakteri *V. parahaemolyticus* adalah *Tryptic Soy Agar* (TSA). Ekastrak bersumber dari spons *A. clathrodes* (orange berbentuk kipas) diambil dari perairan Enepahembang pada kedalaman ~1.5-2 m. Sebagian spons (~400 gram berat basah) dilarutkan dalam 300 mL Metanol (MeOH) dan diekstrak (3x) dan ekstrak metanolik dikeringkan dengan *vacuum rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kasar. Sebanyak 3 konsentrasi ekstrak (1.0, 10.0, dan 100.0) mg/mL digunakan dalam pengujian dengan tetrasiklin sebagai kontrol positif dan metanol sebagai kontrol negatif.

Menggunakan teknik cawan gores, 3 buah kertas cakram (6 mm) steril masing-masing ditetesi ekstrak kasar, kontrol negatif dan positif (60 µL). Setiap perlakuan diulangi sebanyak tiga kali. Setelah biakan diinkubasi selama 24 jam, pengamatan dilakukan dengan mengamati zona hambat atau daerah bening yang terbentuk pada media di sekitar kertas cakram sebagai indikasi aktivitas antibakteri. Zona hambat itu diukur hingga milimeter terdekat, ditabulasi, dievaluasi dan diklasifikasikan akivitasnya sebagai berikut <9 mm (tidak aktif), 9-12 mm (kurang aktif), 13-18 mm (aktif) dan >18 mm (sangat aktif) (Alves *et al.*, 2000).



Gambar 1. Tahapan uji antibakteri

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian aktivitas antibakteri spons *A. clathrodes* terhadap bakteri *V. parahaemolyticus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat

Aktivitas Antibakteri	Ekstrak Kasar									Tetrasiklin		
	1.0 mg/mL			10.0 mg/mL			100.0 mg/mL			0.1 mg/mL		
Zona Hambat (mm)	23.0	20.0	20.0	25.0	24.0	25.0	30.0	30.0	30.0	45.0	45.0	50.0
Rata-rata (mm)	21.0			24.7			30.0			46.6		

Hasil uji antibakteri memperlihatkan bahwa aktivitas ekstrak kasar *A. clathrodes* terhadap *V. parahaemolyticus* meningkat dengan bertambahnya konsentrasi (Tabel 1). Jika dibandingkan dengan zona hambat aktivitas tetrasiklin (46.5 mm), zona hambat pada konsentrasi tertinggi ekstrak pun masih lebih rendah (30.0 mm). Meskipun demikian, aktivitas antibakteri ekstrak *A. clathrodes* itu masih berupa aktivitas ekstrak kasar yang masih sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor (tingkat kemurnian misalnya), berbeda dengan tetrasiklin yang sudah berupa molekul murni. Walaupun demikian, berdasarkan kriteria yang telah dijelaskan sebelumnya, aktivitas antibakteri ketiga ekstrak kasar itu (>18 mm), tergolong sangat aktif.

Sehubungan dengan perbedaan zona hambat pada ekstrak kasar dan antibiotik antibiotik pembanding, kita perlu menyimpulkannya secara saksama. Alasan utamanya ialah sangat mungkin aktivitas biologis (termasuk antibakteri) dari satu ekstrak adalah hasil interaksi kompleks beberapa

molekul terkandung dalam ekstrak itu daripada akibat yang ditimbulkan oleh satu senyawa dalam ekstrak itu (Martinz *et al.*, 2013). Sesungguhnya, berbagai penelitian telah melaporkan tentang interaksi yang sifatnya antagonistik dimana aktivitas antibakteri lebih kuat pada ekstrak kasar daripada fraksi-fraksi (komponen hasil pemisahan dari ekstrak kasar) (Rasoanaivo *et al.*, 2011; Milugo *et al.*, 2013). Di pihak lain, sejumlah peneliti juga melaporkan aktivitas antibakteri yang sifatnya sinergistik dimana aktivitas antibakteri fraksi-fraksi justru lebih kuat dari aktivitas ekstrak kasar (Martinz *et al.*, 2013).

Tetapi seperti halnya penelitian-penelitian sebelumnya (Jensen *et al.* 1999; Sepcic *et al.*, 2010; Quintana *et al.*, 2016, Balansa *et al.*, 2017), penelitian ini pun masih menguji aktivitas antibakteri ekstrak kasar bukan senyawa murni. Akibatnya, aktivitas antibiotik sebenarnya dan molekul-molekul mana yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis pada ekstrak kasar belum bisa diketahui secara pasti. Seperti telah disinggung sebelumnya, faktor-faktor sinergis maupun antagonis dari berbagai komponen dari ekstrak kasar kemungkinan besar memainkan peranan penting dalam menghasilkan aktivitas antibakteri dari spons *A. clathrodes*. Pertanyaan-pertanyaan hanya akan terjawab lewat studi lanjut berupa fraksinasi, pemurnian ekstrak kasar *A. clathrodes*, penentuan struktur molekul dan pengujian antibakteri lanjut terhadap fraksi-fraksi maupun molekul-molekul yang diperoleh dari ekstrak kasar *A. clathrodes*.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi uji dari ekstrak kasar spons *A. Clathrodes* memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap *V. parahaemolyticus* dengan zona hambat makin besar dengan naiknya konsentrasi. Meskipun zona hambat pada tiga konsentrasi masih lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat dari antibiotik pembanding, zona hambat ekstrak-ekstrak kasar itu tergolong sangat aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas HH., Abbas WT. 2011. Assessment Study on the Use of pawpaw, *carica papaya seeds* to Control *Oreocromis Niloticus* Breeding. J. Biol, Sci. 14 (24). 1117-1123.

- Astuti P., Alam G., Pratiwi SUT., Hertiani T., dan Wahyuono S. 2003. Skrining senyawa anti infeksi dari spons yang dikoleksi dari Bunaken, Manado. *Biota* Vol. VIII 127: 47-52.
- Balansa W., Azhari D., Babo D. 2016. Laporan Penelitian Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sponge Perairan Enempahembang Terhadap Bakteri Pathogen Ikan *Aeromonas hydrophila*. 3-14.
- Bharti V, Vasudeva N., Dhuan JH. 2013. Combination Studies of *Oreganum Vulgare* Extract Fractions and Volatile Oil along with Ciprofloxacin and Fluconazole against Common Fish Pathogens. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1), 239-246.
- Chatterjee S., Haldar S., 2012. *Vibrio* Related Diseases in Aquaculture and Development of Rapid and Accurate Identification Methods. *J Marine Sci Res Dev* S1:002. ISSN:2155-9910.
- Guyot, M. 2000. "Intricate aspects of spon chemistry". *ZOOSYSTEMA*, 22: 419-431
- Gutierrez West, C. K., Klein, S. L., and Lovell, C. R. (2013). High frequency of virulence factor genes *tdh*, *trh*, and *tlh* in *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from a pristine estuary. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 2247–2252. doi: 10.1128/AEM.03792-12
- Haenan O., Fous B., Amaro C., Isern M., Mikkelsen H., Zrncic S., Travers M., Renalt T., Wardle R, Hellstrom A., Dalsgaard I. 2013. Laporan Vibriosis in aquaculture EAAP conference Tampere finland.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Jhonson GB., Raven PH. 2004. Biologi Simple Invertebrates., 618-619.
- Raghunath, P. (2015). Roles of thermostable direct hemolysin (TDH) and TDH-related hemolysin (TRH) in *Vibrio parahaemolyticus*. *Front. Microbiol.* 5:805. doi: 10.3389/fmicb.2014.00805
- Sonia, G. A. S.; Lipton, A. P.; Raj, R. P. Fish Pathogenic Bacteria. *The Israel Journal of Aquaculture*. 2008. *Bamidgeh*, 60, 172-176.
- Tommasi R., Brown DG., Walkub GK., 2015. Manchester JI., ESKAPEING the labyrinth of antibacterial discovery. *Nat. Rev. Drug. Dis. Advanced Online Publication*. 1-14.
- Toranzo, A. E. Report about Fish Bacterial Diseases in Alvarez, P. P.; Barja, J. L.; Basurco, B.; Berthe, F.; Toranzo, A. E (eds). 2004. *Mediterranean Aquaculture Diagnostic Laboratories*. 49-89.
- Waturangi, D.E., 2000. "Keanekaragaman Genetik serta Uji Resistensi Antibiotik *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Feses *Farunus spp*", <http://www.hayati.ipb.com>.
- Wu, Y., Wen, J., Ma, Y., Ma, X., and Chen, Y. (2014). Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus*, China, 2003–2008. *Food Cont.* 46, 197–202. doi:10.1016/j.foodcont.2014.05.023