PENGUJIAN ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KIRINYUH TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Vibrio* sp. YANG MENYEBABKAN PENYAKIT ICE-ICE PADA RUMPUT LAUT (*Eucheuma cottoni*)

Antibacterial Test from Ekstract of Kirinyuh Leaves to Inhibit The Growth of *Vibrio* sp. Bacteria which Caused Ice-ice Diseases in Seaweed (*Eucheuma cottoni*)

Lili Suharli^{1*}, Baso Mangguntungi¹, Riri Rimbun¹
Anggih Chaidir¹, Arif Muhamad¹

¹Program Studi Teknobiologi, Universitas Teknologi Sumbawa, Sumbawa, Indonesia

KATA KUNCI KEYWORDS

Eucheuma cottoni, Ice-ice, Kirinyuh, *Vibrio* sp., Zona hambat
Eucheuma cottoni, Ice-ice, Kirinyuh, *Vibrio* sp., Inhibit zone

ABSTRAK

Produksi rumput laut di provinsi NTB pada tahun 2012 mencapai 657.700 ton. Faktanya, pengembangan usaha budidaya rumput laut jenis *Eucheuma cottoni* terkendala penyakit ice-ice. Penyakit ice-ice menurunkan kualitas dan kuantitas rumput laut sehingga menyebabkan gagal panen. Penyakit ice-ice yang disebabkan oleh *Vibrio* sp. menyerang *thallus* pada rumput laut, menyebabkan *thallus* menjadi rapuh dan mudah patah akibat terlisinya sel epidermis dan kloroplas. Ice-ice dapat diatasi dengan pemberian senyawa antibakteri alami dari tanaman kirinyuh (*Chromolaena odorata*). Metode yang digunakan yaitu maserasi sederhana untuk mendapatkan ekstrak daun kirinyuh dan diuji secara *in vitro* dengan teknik difusi agar. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kirinyuh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. dengan zona hambat terluas yaitu 10,315 mm pada konsentrasi 100%.

ABSTRACT

Production of seaweed cultivation in NTB province in 2012 reaches 657,700 tons. The fact, development of seaweed cultivation particularly *Eucheuma cottoni* has obstacles due to the ice-ice disease that infects the seaweed. This ice-ice causes a decrease in the quality and quantity of seaweed causing crop failure. This disease that is caused by *Vibrio* sp. attacks the *thallus* and causes the *thallus* to brittle and breaks easily due to the lysis of epidermal cells and chloroplasts. The ice-ice disease can be threat using natural antibacterial compounds which found in kirinyuh (*Chromolaena odorata*). The used method was a simple maceration of kirinyuh leaves and tested *in vitro* using diffusion agar method. The result obtained that kirinyuh extract was able to inhibit the growth of *Vibrio* sp. with the maximum inhibit zone around 10.315 mm at 100% concentration.

Correspondence:

Email: lili.suharli@uts.ac.id

1. Pendahuluan

Rumput laut banyak dimanfaatkan dalam produk makanan, kesehatan dan bahan bakar. Diversifikasi produk adalah salah satu cara untuk meningkatkan harga jual dari rumput laut itu sendiri (Kotler & Armstrong, 2008). Budidaya komoditas rumput laut memiliki berbagai permasalahan yang dapat menurunkan produksi rumput laut baik secara kuantitatif maupun kualitatif. Produk olahan rumput laut di Indonesia hanya sebatas di bidang makanan saja, dan kebanyakan diekspor dalam bentuk mentah (belum diolah). Produksi rumput laut di provinsi NTB yang terdata pada tahun 2012 mencapai 657.700 ton dan mengalami peningkatan setiap tahunnya. Namun faktanya, pengembangan usaha budidaya rumput laut menghadapi beberapa kendala salah satunya yaitu adanya serangan penyakit *ice-ice* yang menginfeksi rumput laut jenis *Eucheuma cottoni*.

Penyakit *ice-ice* disebabkan *Vibrio* sp. yang menginfeksi *thallus* dari rumput laut. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Arisandi (2011) pertumbuhan rumput laut menjadi lambat dikarenakan kondisi lingkungannya yang tidak mendukung pada bulan-bulan tertentu. Umumnya pada kondisi tersebut rumput laut akan mengalami penurunan kualitasnya karena terserang oleh penyakit. Penurunan kualitas ini terjadi dikarenakan cuaca ekstrim yang menyebabkan perubahan kondisi lingkungan dan mengakibatkan rumput laut menjadi stres dan memproduksi suatu senyawa organik yang menarik *Vibrio* sp. untuk menginfeksi *thallus* rumput laut. Rumput laut yang terserang *ice-ice* akan berubah warna *thallus* menjadi putih akibat terlisinya epidermis dan kloroplas oleh bakteri *Vibrio* sp. sehingga struktur *thallus* dari rumput laut menjadi mudah patah dan hancur (Vairappan, 2006).

Selain itu, penyakit *ice-ice* dapat menurunkan nilai produksi dari rumput laut 70-100% (Aris, 2011), sehingga perlu dilakukan penanggulangan yang tepat dalam menghambat bakteri penyebab *ice-ice* pada rumput laut. Salah satu cara penanggulangan dengan menggunakan senyawa bioaktif alami yang dapat diperoleh dari tumbuhan terutama tanaman non pangan dan keberadaanya cukup melimpah. Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) disebut sebagai *Invasive Alien Species* (IAS) karena mampu tumbuh dan menginvasi suatu dataran. Tanaman Kirinyuh mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antivirus dan antibakteri (Hadiroseyani *et al.*, 2005). Pengujian antibakteri secara *in vitro* dari ekstrak daun kirinyuh telah banyak dilakukan seperti pengujian antibakteri ekstrak daun kirinyuh untuk melawan bakteri *Aeromonas hydrophila* penyebab cacar pada ikan gurame oleh Hadiroseyani *et al.*, (2005) yang menghasilkan luas zona hambat tertinggi yaitu 9,33 mm. Senyawa metabolit sekunder daun kirinyuh seperti flavonoid, alkaloid, tannin dan fenolik berfungsi sebagai antibakteri sehingga banyak dimanfaatkan dalam menyembuhkan penyakit akibat bakteri. Selain itu, penelitian oleh Harlina *et al.*, 2015

menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kirinyuh konsentrasi 1250 ppm paling efektif dalam menghambat *Vibrio harveyi* penyebab vibrosis pada udang.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kirinyuh sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. yang banyak menyebabkan gagal panen pada budidaya rumput laut menggunakan berbagai variasi konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%)g/v secara *in vitro*. Penelitian ini diharapkan mampu menjadi solusi untuk menyelesaikan masalah penyakit *ice-ice* pada rumput laut akibat infeksi bakteri *Vibrio* sp. dan meningkatkan potensi tanaman kirinyuh yang sering disebut tanaman gulma oleh petani dan peternak sebagai antibakteri, sehingga dapat menjadi solusi dari dua permasalahan tersebut.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilaksanakan pada tanggal 7 Juni 2017 di pantai Kerta Sari, Taliwang, Sumbawa, Nusa Tenggara Barat. Penelitian dilaksanakan pada tanggal 5 Juni hingga 22 Juli 2017, di laboratorium Bioteknologi Universitas Teknologi Sumbawa.

Gambar 1. Wadah budidaya *Eucheuma cottoni* dengan metode *longline* (Aris, 2011).

Gambar 1 di atas menunjukkan ilustrasi pengambilan *thallus* rumput laut yang terinfeksi *ice-ice*. Penanda biru dalam gambar merupakan titik pengambilan sampel *thallus* rumput laut yang terinfeksi *ice-ice* sehingga disetiap wadah budidaya terdapat 9 titik pengambilan sampel. Pengambilan sampel *thallus* rumput laut yang terinfeksi penyakit *ice-ice* dilakukan di 3 wadah budidaya yang berbeda-beda dan dipilih secara acak. Sampel *thallus* rumput laut yang terinfeksi *ice-ice* diambil sebanyak 100 g untuk setiap wadah budidaya untuk kemudian disimpan di dalam *ice box*. Setiap wadah budidaya diambil sekitar 10 g *thallus* rumput laut yang terinfeksi *ice-ice* dimasukkan kedalam tabung valcon dan diisi dengan air laut di sekitar wadah budidaya.

2.2 Isolasi *Vibrio* sp. dari *thallus Eucheuma Cottoni* yang Terinfeksi *Ice-ice*

Sampel *thallus* yang disimpan dalam tabung vakon diambil sebanyak 1 g dan 1 mL air laut untuk kemudian digerus menggunakan mortar. Kemudian 0,1 mL hasil gerusan di spreading pada media TCBS lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah itu, single koloni isolat *Vibrio* sp. diinokulasi pada media TCBS (*Thiosulfate citrate bile salt*) yang lain dengan suhu 37°C selama 48 jam untuk mendapatkan isolat murni. Kemudian dikultur pada media NB dan diinkubasi menggunakan *incubator shaker* pada suhu 37°C dengan kecepatan 80-90 rpm selama 24 jam.

2.3 Ekstraksi Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*)

Sebelum dimaserasi daun kirinyuh terlebih dahulu dicuci dan dikeringkan untuk kemudian digerus menggunakan mortar. Setelah itu hasil gerusan diendapkan di dalam akuades sebagai pelarut dan didiamkan selama 12 jam pada suhu ruang.

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*)

Bakteri *Vibrio* sp. yang telah diisolasi dari sampel rumput laut yang terinfeksi *ice-ice* dikultur pada media NB (Nutrient Broth) padat, kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah didapatkan kultur bakteri *Vibrio* sp. yang tumbuh merata pada permukaan media NB padat, *paper disk* yang telah direndam di dalam ekstrak kirinyuh diletakkan di atas permukaan media NB padat untuk kemudian di inkubasi lagi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ekstrak daun kirinyuh yang digunakan yaitu pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Penelitian ini menggunakan akuades sebagai kontrol negatif. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan parameter yang diukur yaitu zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disk* yang telah diberi berbagai variasi konsentrasi ekstrak daun kirinyuh.

2.5 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan SPSS dan di uji menggunakan pengujian berganda Duncan dengan taraf kepercayaan 95%.

3.1. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit *Ice-ice*

Isolasi bakteri penyebab *ice-ice* dari sampel rumput laut jenis *Eucheuma cottoni* yang terserang penyakit *ice-ice* dilakukan pada media TCBS yang merupakan media selektif untuk bakteri *Vibrio* sp. Isolasi ini menghasilkan koloni bakteri *Vibrio* sp. yang ditandai dengan berubahnya warna media TCBS yang awalnya berwarna hijau menjadi warna kuning. Perubahan warna ini diakibatkan oleh aktivitas fermentasi sukrosa oleh bakteri *Vibrio* sp. yang mengakibatkan pH media TCBS yang awalnya basa menjadi asam (Farouque *et al.*, 2000).

Media TCBS mengandung *bromothymol blue* sebagai parameter pH berdasarkan indikator warna. Ketika pH pada media TCBS berada pada angka 8,5 - 9,5, *bromothymol blue* akan berwarna hijau, dan ketika terjadi perubahan pH asam, maka *bromothymol blue* akan merubah warna media TCBS menjadi kuning (Davis, 1948). Menurut Yuwono (2005) sifat biokimia *Vibrio* sp. yaitu mampu memfermentasikan glukosa, dan sukrosa menjadi asam tanpa menghasilkan gas. Penampakan hasil isolasi bakteri penyebab penyakit *ice-ice* pada rumput laut jenis *Eucheuma cottoni* dapat dilihat pada gambar di bawah ini

Gambar 2 isolasi bakteri *Eucheuma cottoni* terinfeksi *ice-ice*

Vibrio tergolong jenis bakteri patogen pada biota laut dan pada manusia. *Vibrio* sp. berhabitat alami di lingkungan akuatik, dapat bersifat aerob dan anaerob fakultatif, bersifat motil menggunakan flagela polar dan bakteri gram negative. *Vibrio* sp. dapat menginduksi penyakit *ice-ice* pada rumput laut saat rumput laut mengalami stress baik akibat rendahnya salinitas maupun intensitas cahaya. Beberapa patogen, terutama bakteri yang memiliki kemampuan bergerak memudahkan bakteri ini untuk menginfeksi permukaan rumput laut (Largo, 2002).

3.2 Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyuh Secara *In Vitro*

Uji antibakteri ekstrak daun kirinyuh terhadap bakteri pada rumput laut *Eucheuma cottoni* yang terinfeksi *ice-ice* dapat terlihat dari zona hambat yang terbentuk. Ekstrak daun kirinyuh digunakan dalam konsentrasi yang berbeda, yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Metode yang digunakan pada uji antibakteri ini adalah difusi agar menggunakan *paper disk*. Zona hambat yang terbentuk semakin luas pada konsentrasi ekstrak daun kirinyuh tertinggi yaitu 100%. Hasil uji zona hambat ekstrak daun kirinyuh dapat di lihat pada tabel 1 di bawah ini

Tabel 1 Luas Zona Hambat pada ekstrak daun kirinyuh

No	Perlakuan	Luas Zona Hambat (mm)
1	Kontrol - (Akuades)	0 ^a
2	Konsetrasi 20%	4,252 ^b
3	Konsentrasi 40%	4,868 ^{bc}
4	Konsentrasi 60%	6,456 ^{cd}
5	Konsentrasi 80%	7,878 ^d
6	Konsentrasi 100%	10, 5 ^e

Keterangan:

Uji analisis berganda Duncan dengan menggunakan taraf kepercayaan 95%

Notasi a, b,c,d,e menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada masing-masing kelompok percobaan

Berdasarkan tabel 1 hasil uji antibakteri ekstrak daun kirinyuh pada bakteri *Eucheuma cottoni* yang terinfeksi *ice-ice* dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kirinyuh maka semakin luas zona hambat yang terbentuk. Zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 100% termasuk golongan kuat dengan luas 10,315 mm. Zona hambat bakteri dibagi menjadi empat golongan berdasarkan luas zona hambat yaitu zona hambat kurang dari 5 mm, sedang dengan zona hambat antara 5-10 mm, kuat dengan zona hambat 10-19 mm, dan sangat kuat dengan zona hambat lebih dari 20 mm (Suryawiria, 2005).

Menurut Purnama (2011) faktor yang mempengaruhi luasnya zona hambat yaitu kepadatan populasi bakteri uji, metode ekstraksi antibakteri dan pelarut, konsentrasi bahan, suhu, dan kandungan senyawa aktif dalam bahan antibakteri. Hal ini menyebabkan senyawa antibakteri memiliki daya hambat optimal pada konsentrasi tertentu. Oleh karenanya zona hambat yang dihasilkan oleh setiap perlakuan tidak mengalami peningkatan yang sama. Luas zona hambat yang dihasilkan tidak selalu sama dengan meningkatnya konsentrasi yang diberikan. Hal ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar, jenis pelarut yang digunakan, jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri, serta faktor waktu pengeringan *paper disk* (Istiqomah dkk, 2015).

A

B

Gambar 3 A dan B Zona hambat yang terbentuk pada koloni *Vibrio* sp

Bahan aktif pada ekstrak daun kirinyuh yang berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. adalah senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid bekerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui perusakan membran sel bakteri dan denaturasi protein pada sel bakteri, sehingga bakteri mati (Brooks *et al.*, 2005). Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan mengakibatkan terjadinya kerusakan pada membran sel bakteri dan diikuti oleh keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999).

Menurut Cushnei dan lamb (2005), flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Terhambatnya respirasi sel dalam menghasilkan energi pada proses metabolisme energi sehingga kebutuhan bakteri untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis senyawa makromolekul terhambat. Selain itu, ekstrak daun kirinyuh juga mengandung senyawa tannin yang mampu menginaktivkan adhesin sel dan enzim pada bakteri serta mengganggu penyaluran

protein pada lapisan dalam sel. Tannin juga memiliki kemampuan untuk melisis polipeptida pada dinding sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tidak dapat terbentuk sempurna.

3. Kesimpulan

Pemberian ekstrak kasar daun kirinyuh berpengaruh cukup baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. Hasil pengujian secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi agar dengan *paper disk* menunjukkan bahwa perlakuan dengan konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat yang tergolong kuat dibandingkan dengan zona hambat yang dihasilkan pada perlakuan dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dapat terlaksana dengan dana dari Penelitian Dosen Pemula (PDP) RISTEKDIKTI. Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Arisandi, Apri, dkk. 2011. Kecepatan dan Presentase Infeksi Penyakit *Ice-ice* pada *Kappaphycus alvarezii* di Perairan Bluti Sumenep. *Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*. 03: 46 – 51.
- Brooks, G. F. Butel, J. S Morse. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Alih Bahasa. Salemba Medika. Jakarta.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 –582.
- Cushnie, T.P.T., dan A.J. Lamb. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343 – 356.
- Davis, B.M., H.M. Kimsey, W. Chang and M.K. Waldor. 2001. The *Vibrio cholerae* O139 Calcutta Bacteriophage CTX is Infectious and Encodes A Novel Repressor. *Journal of Bacteriology*. 181(21): 67-79
- Farouque, S.M., M.J. Albert and J.J. Mekalanos. 2000. Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(4): 1301-1314.

Hadiroseyani, Y., Hafifuddin, Alifuddin, M., dan Supriyadi, H. 2005. Potensi Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Untuk Pengobatan Penyakit Cacar Pada Ikan Gurame (*Ophronemus gouramy*) Yang Disebabkan *Aeromonas hydrophilla* S26. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 4 (2): 139– 144.

Harlina, Prajidno, A., Suprayitno, E., Nursyam, H. 2015. The Identification of Chemical Compound and Antibacterial Test of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L) Leaf Extract Against *Vibriosis*-Causing *Vibrio harveyi* (MR 275 Rif) on Tiger Shrimp. *Aquatic Science and Technology*, 1 (2): 15-29.

Istiqomah, Lusty., Ema Damayanti., Hardi Julendra., Dewi Istika., dan Sri Winarsih. 2014. Daya Hambat Granul Ekstrak Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap Bakteri Patogenik Secara *in Vitro*. *Jurnal Sains Veteriner*. **32**. (1). 93-103

Kotler P, G Armstrong. 2008. Dasar-dasar Pemasaran. Edisi 9. Jilid 1 dan 2. PT. Indeks. Jakarta

Largo, Danilo. B. 2002. Recent developments in seaweed diseases. In: A.Q. Hurtado, N.G. Guanzon, Jr., T.R. de Castro-Mallare, & M.R.J. Luhan (Eds.) Proceedings of the National Seaweed Planning Workshop held on August 2-3, 2001, SEAFDEC Aquaculture Department.

Purnama, Rahmad., Melki., Wike Ayu EP., dan Rozirwan. 2011. Potensi Ekstrak Rumput Laut *Halimeda renchii* dan *Euchema cottonii* Sebagai Antibakteri *Vibrio* Sp. *Maspari Journal*. **2**. (1). 82-88

Suryawiria, U. 2005. Mikrobiologi Dasar. Paps Sinar Sinanti. Jakarta. Suparmi dan Sahri, A. 2009. Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut dari Aspek Industri dan Kesehatan. *Sultan Agung*, Vol. XLIV No. 118

Yuwono, T. 2005. Biologi Molekuler. Jakarta: Erlangga

Vairappan, C.S. 2006. Seasonal occurrences of epiphytic algae on the commercially cultivated red alga *Kappaphycus alvarezii* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 18: 611–617