



PENGUJIAN IN-VIVO EKSTRAK RUMPUT LAUT DALAM MENANGANI BAKTERI PATHOGEN YANG MENYERANG IKAN KERAPU

IN-VIVO TESTING OF MACROALGAE EXTRACT AGAINST PATHOGENIC BACTERIA INFECTING BRACKISH WATER GROUPER FISH.

Oleh

Yanti Mutalib¹, Lady Diana Khartiono¹, Admi Athirah², Teuku Fadlon Haser³, Darsiani⁴

¹Universitas Muhammadiyah Luwuk

²Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan, Maros

³Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian Universitas Samudra

⁴Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Sulawesi Barat

email : yantimutalib@gmail.com

Abstrak: Pengendalian vibriosis pada kegiatan budidaya ikan kerapu masih mengandalkan penggunaan obat-obatan atau antibiotik sintetik. Namun penggunaan antibiotik dalam jangka waktu tertentu menyebabkan timbulnya masalah resistensi bakteri patogen terhadap obat-obatan tersebut. Antibakteri yang diperoleh dari sumber-sumber alami diharapkan dapat mengatasi masalah resistensi bakteri. Salah satu sumber yang telah diuji efektivitasnya secara in-vitro adalah ekstrak rumput laut *Ulva reticulata*. Pada penelitian ini, efektivitas senyawa antibakteri pada *U. reticulata* diujikan secara in-vivo dengan memberikan perlakuan berupa empat kelompok yang direndam pada larutan empat konsentrasi ekstrak sebagai media pengobatan dan satu kelompok kontrol. Hasil akhir menunjukkan bahwa konsentrasi terbaik yang dapat digunakan untuk membunuh dan menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus* adalah perlakuan dengan konsentrasi 2000 ppm.

Kata Kunci : *Cromileptes altivelis*, postulate kouch, uji lempeng total, *Vibrio alginolyticus*

Abstract: *Vibriosis controlling in the cultivation of grouper fishes still counts on the use of synthetic pharmacy or antibiotics. However, prolonged used of antibiotics can resulted in bacteria becoming resistance. Antibacterial agent derived from natural resources is expected to be able to overcome the problem. Ulva reticulata extract is one of the candidates that have been tested in-vitro to possessed antimicrobial bioactive compounds. This study aimed at testing its effectivity against pathogenic bacteria infecting Humpback grouper. Final results shows that the highest concentration (2000 ppm) given to the fish soaking tanks gives the best results.*

Keywords: *Cromileptes altivelis*, Kouch postulate, total plate count, *Vibrio alginolyticus*

I. PENDAHULUAN

Kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) merupakan salah satu jenis ikan karang yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan telah menjadi komoditas ekspor penting terutama ke Hong Kong, Jepang, Singapura dan Cina. Capaian angka produksi sementara pada tahun 2012 untuk ikan kerapu sebesar 10.200 ton (KKP, 2013) Ikan kerapu tikus (*C. altivelis*) merupakan salah satu ikan laut yang berprospek cukup cerah. Harga ikan kerapu tikus sebagai ikan konsumsi dalam keadaan hidup (600 – 1200 gram/ekor) sampai saat ini mencapai Rp. 400.000 – Rp.450.000 / kg (Gafhani, 2012)

Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan kerapu tikus adalah *Vibrio alginolyticus*. Stadia juvenil ikan kerapu tikus dengan rata - rata berat 9,91 - 15,40 gram dan panjang 6 -10 cm rentan

terhadap infeksi mikroba. Kematian massal yang disebabkan oleh penyakit infeksi tersebut mencapai 90 - 100% (rata-rata 93,3%) selama 21 hari. Kematian ikan kerapu tidak hanya terjadi pada stadia larva dan juvenil secara massal tetapi juga pada induk kerapu yang dipelihara dalam bak induk hingga mencapai 40%. (Zafran, 2004)

Hasil penelitian (Wijayanti A, N Hamid, 1997) berhasil mengidentifikasi bakteri patogen pada benih ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) sebagai *Vibrio anguillarum*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio maris*. Sedangkan *Vibrio* patogen yang ditemukan menyerang induk dan larva ikan kerapu lumpur, kerapu malabar dan ikan napoleon adalah *V. alginolyticus*, dan *V. Parahaemolyticus*.

Usaha pengendalian vibriosis pada kegiatan budidaya ikan kerapu masih mengandalkan pada penggunaan obat-obatan atau antibiotik sintetis. Beberapa antibiotik yang umumnya digunakan dalam kegiatan budidaya di Indonesia adalah *oxytetracycline*, *chloramphenicol*, *erythromycin*, *streptomycin*, *neomycin*, dan *ciprofloxacin*. Jenis antibiotik tersebut umumnya digunakan untuk menanggulangi penyakit bakterial pada ikan dan udang melalui oral maupun perendaman (FAO, 2005).

Namun penggunaan antibiotik dalam jangka waktu tertentu dapat menyebabkan timbulnya masalah resisten bakteri patogen terhadap antibiotik tersebut pada tubuh ikan, mencemari lingkungan yang akhirnya dapat membunuh organisme bukan sasaran (Guo et al., 2009).

Untuk mengurangi efek samping yang ditimbulkan oleh antibiotik sintetis maka perlu penemuan antibiotik yang berasal dari alam yang dapat digunakan secara efektif dan berlaku dalam jangka waktu panjang dalam melawan bakteri patogen pada organisme budidaya. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit pada organisme akuakultur adalah rumput laut. Rumput laut merupakan salah satu bahan alam yang telah banyak dimanfaatkan sebagai antibakteri dan antijamur. Sampai saat ini telah banyak penelitian yang mengarah kepada pencarian atau penemuan jenis antimikroba baru yang memanfaatkan rumput laut sebagai bahan dasar (Zainuddin dan Malina, 2009; Zainuddin, 2010).

Rumput laut memiliki senyawa aktif yang memiliki aktifitas antibakteri senyawa yang dimiliki karena dapat berfungsi sebagai antibakteri. (Val et al., 2001) menemukan bahwa ada 28 spesies alga yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Salah satunya adalah *Ulva reticulata*. Jenis ini memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi* (Karthikaidevi et al., 2009).

Rumput laut *U. reticulata* juga dilaporkan mengandung asam lemak esensial seperti asam linoleat, asam α -linolenat, asam arakhidonat, dan asam eikosapentaenoat (Al Saif et al., 2014). Jika dibandingkan dengan kacang hijau, kandungan asam linoleat pada rumput laut *Ulva* spp. sedikit lebih tinggi yaitu masing-masing sebesar 2,72% dan 2,23% (Puspawati et al., 2011).

Dalam penelitian yang dilakukan Kolanjinathan and Stella (2011) ditemukan bahwa aktivitas antibakteri rumput laut ekstrak *U. reticulata* dan *U.*

lactuca memiliki zona hambat terhadap Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*). Studi mengenai efektifitas ekstrak *U. reticulata* sejauh ini merupakan pengujian in-vitro yang menggunakan *agar plate* sebagai media uji. Oleh karena itu, pada penelitian kali ini, efektifitas ekstrak rumput laut tersebut langsung diujikan secara in-vivo terhadap ikan kerapu bebek *Cromileptes activelis*.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biofarmaka Universitas Hasanuddin Makassar dan Laboratorium BBAP Takallar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: ekstraksi rumput laut dengan metode maserasi kinetik menggunakan pelarut polar methanol (CH₃OH). Metode penelitian yang digunakan melibatkan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima perlakuan, yang terdiri dari beberapa konsentrasi larutan media perendaman ikan yakni (2000, 1000, 500, dan 250 ppm serta perlakuan kontrol dimana media perendaman tidak dicampur dengan ekstrak *U. reticulata*). Setiap perlakuan memiliki masing-masing tiga ulangan. Uji ANOVA dan Tukey dilakukan pada taraf signifikansi 95%. Jumlah sampel untuk masing-masing unit pengamatan adalah 10 ekor benih ikan kerapu tikus (*C. altivelis*) yang memiliki ukuran panjang rata-rata 7 cm dengan berat rata-rata 0,8 g.

Ikan diinfeksi dengan bakteri *Vibrio alginolyticus* yang diperoleh dari BBAP Takallar diisolasi mengikuti *Postulat Kouch*. Penginfeksian ikan dengan isolate bakteri dilakukan melalui penyuntikan pada rongga perut di pagi hari. Lima menit setelah prosedur penginfeksian, ikan direndam dalam larutan *U. reticulata* sesuai dengan masing-masing perlakuan selama 30 menit. Ikan kemudian dipindahkan kedalam bak pemeliharaan untuk diamati.

Sampel darah diambil pada hari ke tujuh, empat belas dan dua puluh satu. Sampel darah kemudian di kultur pada media diffusion agar plate, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Setelah fase inkubasi, jumlah koloni bakteri yang terbentuk dihitung dengan metode angka total lempeng (ALT)

Analisa Data

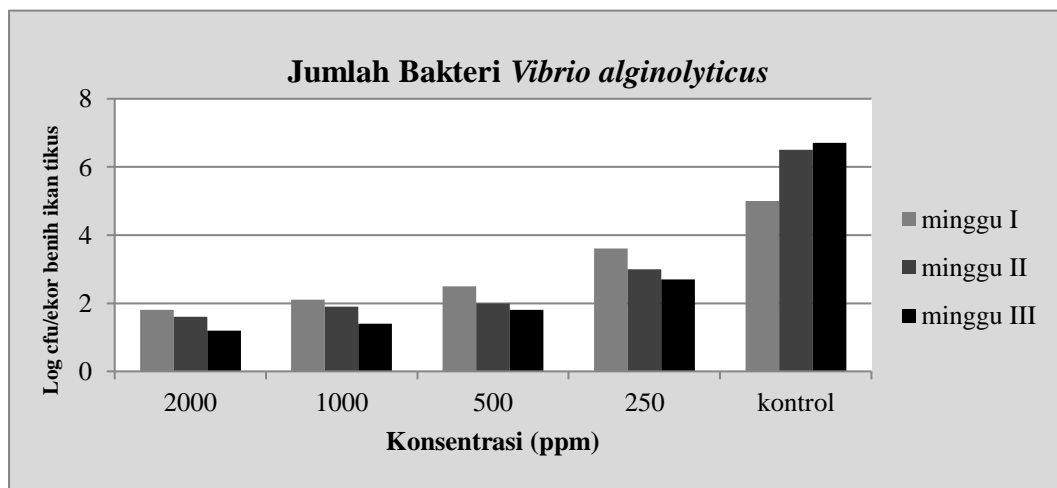
Data kelangsungan hidup ikan dalam uji LC₅₀ dianalisis melalui program Probit Analysis yang dibantu dengan tabel probit dan untuk ANOVA menggunakan *Microsoft Excel*.

III. HASIL

Uji Tantang Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* Secara In-Vivo

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak *Ulva reticulata* berpengaruh terhadap jumlah bakteri yang terdapat dalam darah

ikan. Uji lanjut Tukey memperlihatkan bahwa konsentrasi 2000 ppm, 1000 ppm dan 500 ppm tidak berbeda secara nyata akan tetapi, hasil pada ketiga perlakuan tersebut berbeda secara nyata dengan hasil yang diperoleh pada konsentrasi 250 ppm dan kontrol. Gambar dibawah menunjukkan jumlah bakteri *V. alginolyticus* yang terbentuk:

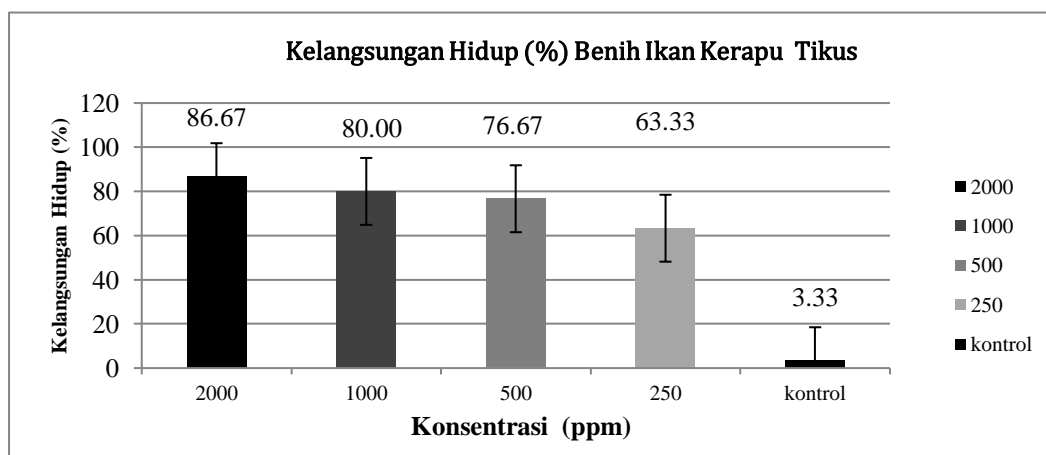


Gambar 1. Jumlah Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada darah ikan

Gambar diatas diatas juga memperlihatkan penurunan jumlah bakteri setiap minggunya pada tiap-tiap unit perlakuan kecuali pada kontrol, dimana justru terjadi peningkatan. Jumlah bakteri terkecil diperoleh pada perlakuan 1 dengan tren meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi *U. reticulata* yang dicampurkan pada media perendaman.

Hasil uji ANOVA juga menunjukkan kalau perlakuan memiliki efek terhadap tingkat kelangsungan hidup dari benih ikan kerapu tikus. Uji lanjut Tukey menunjukkan bahwa perlakuan 1 memiliki efek yang berbeda secara nyata dengan perlakuan lainnya, sementara perlakuan 2 dan perlakuan 3 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2. berikut:

Kelangsungan Hidup (SR %) Benih Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)



Gambar 2. Grafik Kelangsungan Hidup Benih Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)

Dari grafik diatas terlihat bahwa kelangsungan hidup tertinggi diperoleh pada perlakuan 1 yakni sebesar 86,67%, yang berbeda sangat jauh dengan

kontrol yang sama sekali tidak direndam dengan ekstrak *U. reticulata*.

IV. PEMBAHASAN

Uji Tantang Terhadap Bakteri Vibrio alginolyticus Secara In-Vivo

Rumput laut *Ulva reticulata* atau yang lebih dikenal sebagai sawi laut menghasilkan metabolit sekunder yang mengandung senyawa aktif golongan flavonoid yang terdiri dari *Rutin*, *Quercetin* dan *Caempferol* (Al-Saif et al. 2014). Efektivitas dari senyawa-senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen telah dibuktikan sebelumnya dalam beberapa studi menggunakan *agar diffusion assay* lihat: Ravikumar et al., 2016 dan Noer et al., 2006. Disamping memiliki aktifitas antibakteri, ekstrak *U. reticulata* juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan sistem imun pada ikan karena mengandung karotenoid yang dapat membantu tubuh memerangi infeksi dari bakteri patogen (Nisha et al. 2014).

Penurunan jumlah bakteri yang terkandung dalam sampel darah ikan pada semua perlakuan yang memperoleh ekstrak *U. reticulata* mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak pada bak pengobatan, semakin rendah konsentrasi bakteri pada darah ikan. Sementara itu, kelompok kontrol mengalami tingkat pertumbuhan bakteri yang semakin meningkat setiap minggunya.

Karena konsentrasi tertinggi pada penelitian ini merupakan perlakuan dengan jumlah bakteri terendah, maka tidak diketahui dosis tertinggi ekstrak *U. reticulata* yang dapat dicampurkan ke dalam bak pengobatan. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan untuk menentukan batas maksimum ekstrak *U. reticulata* yang dapat diberikan kepada ikan.

Kelangsungan Hidup (SR %) Benih Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis)

Pengujian in-vivo ekstrak *Ulva reticulata* juga pernah dilakukan oleh Nainu et al., (2018) terhadap lalat *Drosophilla melanogaster* yang diinfeksi dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Dalam penelitian tersebut, diperoleh hasil pemodelan yang menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup pada lalat menurun selama periode infeksi. Namun tingkat kelangsungan hidup tersebut membaik pada pemberian ekstrak *U. reticulata* dengan konsentrasi 25 mg/ml.

Pengujian secara *in-vivo* pada ikan kerapu bebek yang terinfeksi *Vibrio alginolyticus* pada penelitian ini juga menunjukkan efektivitas yang sama, dimana kontrol (ikan yang tidak diberikan injeksi ekstrak *U. reticulata*) memiliki tingkat kelangsungan hidup yang sangat rendah, yakni 3,33%. Tingkat kelangsungan hidup tertinggi

diperoleh pada perlakuan dengan pemberian ekstrak tertinggi.

Angka kelangsungan hidup tertinggi pada perlakuan 1 sebesar 86,67% menunjukkan konsentrasi sebesar 200 ppm tidak memberikan pengaruh buruk terhadap kelangsungan hidup benih ikan kerapu.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil Uji ALT darah ikan dan tingkat kelangsungan hidup benih ikan kerapu tikus pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak *U. reticulata* dengan konsentrasi 2000 ppm merupakan perlakuan terbaik untuk pengobatan ikan kerapu tikus yang terserang bakteri *Vibrio Alginolyticus*.

VI. REKOMENDASI DAN SARAN

1. Perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai senyawa bioaktif yang mana diantara senyawa-senyawa bioaktif *U. reticulata* yang memiliki efek antibakteri terhadap *V. alginolyticus* melalui penelitian pemisahan metabolit sekunder.
2. Perlunya dilakukan penelitian mengenai dosis maksimal ekstrak *U. reticulata* yang dapat digunakan dalam perendaman ikan yang terinfeksi *V. alginolyticus*

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Saif, S.S.A.L., Abdel-Raouf, N., El-Wazanani, H.A. and Aref, I.A., 2014. Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, 21(1), pp.57-64.
- Austin B dan Austin D., 2007. *Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish Fourt Edition Spinger*.
- FAO. 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. . *FAO Fisheries tehcnical paper, Rome, FAO.*, 97 p.
- Gafhani, I. A., 2012. Pengaruh Kepadatan Terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan Kelautan*, 109-114.
- Guo, J.J., Liu, K.F., Cheng, S.H., Chang, C.I., Lay, J.J., Hsu, Y.O., Yang, J.Y. and Chen, T.I., 2009. Selection of probiotic bacteria for use in shrimp larviculture. *Aquaculture Research*, 40(5), pp.609-618.
- Hamid, W. D., 1997. *Identifikasi Bakteri pada Pembenihan Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis)*. Jakarta: Dirjen Perikanan, Departemen Pertanian.

- Hastari F., I. S., 2014. Karakterisasi Agensia Penyebab Vibriosis dan Gambaran Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari Keramba jaring Apung Teluk Hurun Lampung. *Journal of Aquaculture Manajemen and Technology*, Volume 3.
- KKP., 2013. *Produk Budidaya Laut Diminati Pasar Ekspor (Internet t)*. Retrieved 5 11, 2015, from <http://www/kkp.go.id/index.php/arsip/c/9248/kkp-produk-budidaya-laut-diminati-pasar-ekspor>.
- Koesharyani, I. D., 2001. *Penuntun Diagnosa Penyakit Ikan II*. Gondol-Singaraja.
- Puspawati, N.M., Suastuti, N.G.A.M.D. and Dewi, D.A.I., Analisis Asam Lemak Rumput *Laut Ulva reticulata* Forsskal Yang Diperoleh Dari Pantai Segara Sanur. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*.
- Mutalib. Y dan L. D Khartiono., 2018. Efektifitas Ekstrak *Ulva reticulata* Dengan Pelarut yang Berbeda Terhadap Infeksi Bakteri Patogen *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio Parahaemolyticus* Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Secara In-Vitro. *Jurnal Sains Teknologi Akuakultur*, 57-64.
- Karthikaidevi G, Manivannan K, Thirumaran G, Anantharaman P, dan Balasubramanian T. 2009. Antibacterial properties of selected green seaweeds from Vedalai Coastal Waters ; Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve. *Global Journal of Pharmacology*.
- Kolanjinathan, K. dan D. Stella., 2011. Comparative Studies on Antimicrobial Activity of *Ulva reticulata* and *Ulva lactuca* against Human Pathogens. *International Journal of Pharmaceutical dan Biological Archives*. Vol 2 (6) :1738 - 1744. Department of Rama
- Nisha, P., Elezabeth Mary, A., Uthayasiva, M. and Arularasan, S., 2014. Seaweed *Ulva reticulata* a potential feed supplement for growth, colouration and disease resistance in fresh water ornamental gold fish, *Carassius auratus*. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 5, p.254.
- Ravikumar, S., Anburajan, L. and Meena, B., 2016. Antibacterial activity of *Ulva reticulata* from southwest coast of Kanyakumari, India. *Journal of Coastal Life Medicine*, 4(3), pp.246-247.
- Sarjito, 2011. Penggunaan Repetitive Sequence Based Polychain Reaction (REP-PCR) untuk Pengelompokkan Bakteri *Vibrio* yang Berasosiasi dengan Ikan Kerapu Sakit dari Perairan Karimunjawa . *J. Ilmu Kelautan*, 16 (2) 103-110.
- Val, A., Platas, G., Basilio, A., Cabello, A., Gorrochategui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Río, M., Reina, G. and Peláez, F., 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *International Microbiology*, 4(1), pp.35-40.
- Wijayanti A, N Hamid., 1997. *Identifikasi Bakteri pada Pembenihan Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis)*. Jakarta: Dirjen Perikanan, Departemen Pertanian.
- Zafran, M. D., 2004. Infeksi Iridovirus pada Juvenil Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) di Keramba Jaring Apung. Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol. *Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol* . Bali.
- Zainuddin, E.N., 2010. Antibacterial potential of marine algae collected from South Sulawesi coast against human pathogens. *Proceedings of International Conference and Talkshow on Medicinal Plants*. BPPT, Jakarta, Indonesia. ISBN 978 – 602 – 95911 - 1- 8.