

## PENGARUH EKSTRAK LAMUN *Enhalus acoroides* SECARA IN VITRO SEBAGAI ANTIBAKTERI *Vibrio* sp. PENYEBAB PENYAKIT ICE-ICE PADA RUMPUT LAUT *Eucheuma cottoni*

Alfianti Yuliastiwi Susiyanto<sup>1</sup>, Hendro Hitijahubessy<sup>1\*</sup>, Aprianti Samid<sup>1</sup>, Oscar Cesar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Bioteknologi Perikanan, Jurusan Teknologi Hasil Perikanan  
Politeknik Perikanan Negeri Tual

\*[hendrokimia4@gmail.com](mailto:hendrokimia4@gmail.com)

Received: 08 June 2021 / Accepted: 01 July 2021 / Published: 31 July 2021

### ABSTRACT

Ice-ice disease is a disease caused by *Vibrio* sp. which infects the thallus of the seaweed *Eucheuma cottoni*. Ice-ice disease can be prevented by using natural ingredients that are antibacterial. One of the natural ingredients that are expected to have the ability as an antibacterial is the seagrass *Enhalus acoroides*. Extracts from the seagrass *Enhalus acoroides* using water as a solvent, then varying the concentration and testing with the agar diffusion method and disc paper on TCBS media that has been overgrown with *Vibrio* sp. The results of the test using agar and disc paper diffusion methods showed that the administration of seagrass *Enhalus acoroides* extract was able to inhibit the growth of *Vibrio* sp. with the formation of a clear zone. The clear zone area produced was 15 mm and 16 mm respectively at concentrations of 80% and 100%. The clear zone area shows the ability of the extract to inhibit bacterial growth or is often called the inhibition zone. Based on the standard inhibition zone classification, the ability of seagrass *Enhalus acoroides* extract was in a strong inhibition zone. The results of a strong inhibition zone can be concluded that the seagrass extract of seagrass *Enhalus acoroides* can function as an antibacterial for *Vibrio* sp. to prevent ice-ice disease in seaweed *Eucheuma cottoni*.

**Key Word:** *Vibrio* sp., Ice-ice disease, *Enhalus acoroides*, *Eucheuma cottoni*.

### ABSTRAK

Penyakit *ice-ice* adalah penyakit yang disebabkan salah satunya oleh bakteri *Vibrio* sp. yang menginfeksi *thallus* rumput laut *Eucheuma cottoni*. Penyakit *ice-ice* dapat dicegah dengan menggunakan bahan alam yang bersifat sebagai antibakteri. Salah satu bahan alami yang diharapkan memiliki kemampuan sebagai antibakteri yaitu tumbuhan lamun *Enhalus acoroides*. Ekstrak dari tumbuhan lamun *Enhalus acoroides* dengan menggunakan pelarut air, kemudian dilakukan variasi konsentrasi serta pengujian dengan metode difusi agar dan kertas cakram pada media TCBS yang telah ditumbuhi bakteri *Vibrio* sp. Hasil pengujian menggunakan metode difusi agar dan kertas cakram diperoleh bahwa pemberian ekstrak lamun *Enhalus acoroides* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. dengan adanya zona bening yang terbentuk. Luas zona bening yang dihasilkan secara berurutan sebesar 15 mm dan 16 mm pada konsentrasi 80% dan 100%. Luas zona bening menunjukkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau sering disebut zona hambat. Berdasarkan standar klasifikasi zona hambat maka kemampuan ekstrak lamun *Enhalus acoroides* berada dalam zona hambat yang kuat. Hasil zona hambat yang kuat dapat disimpulkan bahwa ekstrak lamun *Enhalus acoroides* dapat berfungsi sebagai antibakteri *Vibrio* sp. untuk mencegah penyakit *ice-ice* pada rumput laut *Eucheuma cottoni*.

**Kata kunci:** *Vibrio* sp., Penyakit *ice-ice*, *Enhalus acoroides*, *Eucheuma cottoni*.

## PENDAHULUAN

Rumput laut dari jenis *Eucheuma cottonii* merupakan sumber utama hidrokoloid karagenan yang penting secara komersial (Cokrowati dkk., 2019; Ask dan Azanza, 2002). Pertumbuhan rumput laut menjadi lambat dikarenakan kondisi lingkungan yang tidak mendukung pada bulan-bulan tertentu. Umumnya pada kondisi tersebut rumput laut akan mengalami penurunan kualitasnya disebabkan terserang oleh penyakit (Arisandi, 2011). Penurunan kualitas dan kuantitas ini terjadi dikarenakan cuaca ekstrim yang menyebabkan perubahan pada kondisi lingkungan dan mengakibatkan rumput laut menjadi stress 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). Spesies yang termasuk dalam genus *Vibrio* adalah bakteri gram-negatif dengan bentuk seperti batang yang lurus atau melengkung serta dengan adanya flagela. Genus ini terdiri lebih dari seratus spesies anaerob fakultatif dan ditemukan di air tawar, payau dan laut (Culot dkk., 2020; Farmer dan Janda 2015; Takemura dkk., 2014). Telah dilakukan penelitian antibakteri *Vibrio sp.* dengan menggunakan ekstrak daun krinyuh dengan menunjukkan zona hambat sedang dan kuat pada konsentrasi ekstrak 80% dan 100% (Muhamad, 2017). Merujuk dari penelitian tersebut maka perlu dimanfaatkan tumbuhan lain yang mudah didapat dan dalam jumlah banyak untuk digunakan sebagai antibakteri, terutama dapat digunakan oleh petani yang membudidayakan rumput laut di Maluku Tenggara. Tanaman yang dimanfaatkan dalam penelitian ini adalah lamun *Enhalus acoroides*.

Lamun *Enhalus acoroides* mengandung senyawa flavonoid yang biasa ditemukan pada daun, batang, bunga dan buah (Waji dan Andis, 2009). Kandungan senyawa yang terdapat pada lamun *Enhalus acoroides* yang diekstrak menggunakan pelarut air diharapkan mampu mengisolasi flavonoid dan senyawa polifenol lainnya yang terkandung dalam lamun *Enhalus acoroides*, dimana merupakan senyawa yang dapat memiliki sifat sebagai antibakteri *Vibrio sp.* terhadap penyakit *ice-ice* yang menyerang rumput laut *Eucheuma cottonii*.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan alat

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Eucheuma cottonii* dan lamun *Enhalus acoroides* yang diperoleh dari pesisir pantai Ohoi Sathean, Kabupaten Maluku Tenggara, Provinsi Maluku. Bahan kimia yang digunakan yaitu media TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose*), alkohol 70%, aquades, kertas cakram. Alat yang digunakan adalah Cawan petri, Erlenmeyer, Spatula, Neraca analitik, Jarum ose, Tabung reaksi, *Autoclave*, Bunsen, *Hot plate*, *Colony counter*, *Incubator air concept*, *Incubator bio concept*, Blender, Serbet, kertas label.

### Preparasi sampel

Pengambilan sampel *thallus* rumput laut yang terinfeksi *ice-ice* diambil sebanyak 100 g kemudian disimpan didalam botol kosong yang sudah disterilkan lalu diisi dengan air laut.

### Persiapan/sterilisasi alat

Semua alat yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat yang terbuat dari kaca dicuci dan dikeringkan. Setelah kering, alat-alat tersebut dibungkus dengan menggunakan kertas dan dimasukkan kedalam plastik tahan panas (*thermal plastic*). Setelah itu semua alat-alat tersebut disterilisasikan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 60 menit.

### **Pembuatan media TCBS**

Media TCBS sebanyak 8,8 gram dilarutkan kedalam aquades sebanyak 100 ml kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer, mulut tabung Erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil untuk kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga media TCBS larut dalam aquades. Setelah itu di sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

### **Isolasi *Vibrio sp.***

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 taruh di atas media TCBS lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah itu, koloni isolate bakteri *Vibrio sp.* di inokulasi pada media TCBS yang lain dengan suhu 37°C selama 48 jam untuk mendapatkan isolat murni.

### **Ekstraksi lamun *Enhalus acoroides***

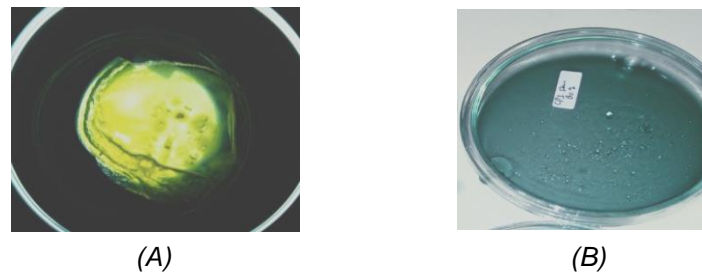
Metode yang digunakan untuk ekstraksi lamun *Enhalus acoroides* pada penelitian ini menggunakan metode maserasi sederhana. Sebelum di maserasi lamun terlebih dahulu dicuci dan dikeringkan untuk kemudian digerus menggunakan mortar. Setelah itu hasil gerusan diendapkan di dalam aquades sebagai pelarut dan didiamkan selama 12 jam pada suhu ruang. Kemudian dibuat ekstrak dengan konsentrasi 80% dengan menambahkan pelarut aquades.

### **Uji aktivitas antibakteri ekstrak lamun *Enhalus acoroides***

Pengujian aktivitas ekstrak lamun *Enhalus acoroides* menggunakan metode difusi agar dengan kertas cakram. Penggunaan metode ini bertujuan untuk melihat seberapa besar aktivitas antibakteri ekstrak lamun dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* dengan jenis konsentrasi yang dilihat dari zona hambatnya. Bakteri *Vibrio sp.* yang telah diisolasi dari sampel rumput laut yang terinfeksi *ice-ice* dikultur pada media TCBS. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah didapatkan kultur bakteri *Vibrio sp.* yang tumbuh merata pada permukaan media TCBS, kertas cakram yang sudah direndam di dalam ekstrak lamun diletakkan di atas permukaan media TCBS untuk kemudian di inkubasi lagi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ekstrak lamun yang digunakan yaitu pada konsentrasi 80% dan 100%. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dengan parameter yang diukur zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram yang telah diberi berbagai variasi konsentrasi ekstrak lamun.

### **HASIL PENELITIAN**

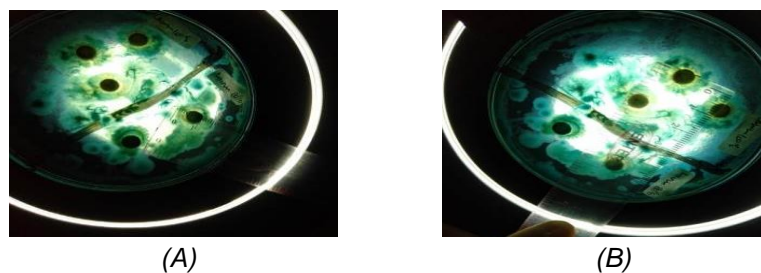
Media TCBS adalah media selektif untuk bakteri *Vibrio sp.* Media ini mengandung konsentrasi tinggi natrium sulfat dan natrium thiosulfat. Thiosulfat berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri lainnya yang tumbuh pada media ini. Karena media ini termasuk media selektif untuk menumbuhkan satu jenis bakteri saja yaitu bakteri *Vibrio sp.* (Hasan, 2010). Proses selanjutnya penggoresan *thallus* rumput laut yang terserang *ice-ice* pada media TCBS untuk menumbuhkan bakteri. Teknik penggoresan ini bertujuan untuk mengisolasi atau meremajamkan kultur ke dalam medium baru. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah seperti yang terlihat pada **gambar 1**.



**Gambar 1. Media TCBS (A) dan Inokulasi *Vibrio sp.* pada media TCBS (B)**

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 dkk., 2000). Hasil isolasi bakteri *Vibrio sp.* yang diperoleh dari media TCBS diinokulasi kembali ke dalam media TCBS baru yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam yang bertujuan untuk mendapatkan koloni murni dari isolat bakteri *Vibrio sp.* dapat dilihat pada gambar 1 (B).

Setelah diinkubasi lalu dilakukan pengamatan, dan semua cawan ditumbuhi bakteri, kemudian dilakukan perlakuan dengan menggunakan ekstrak kasar lamun *Enhalus acoroides* dengan konsentrasi 80% dan 100%. Perlakuan ini dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram. Hasil pengujian menggunakan metode difusi agar dengan kertas cakram di dapatkan bahwa pemberian ekstrak lamun konsentrasi 80% dan 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* seperti terlihat pada gambar 2.



**Gambar 2. Zona hambat ekstrak lamun 80% (A) dan 100% (B)**

Zona bening yang terbentuk akibat difusi agar dengan menggunakan kertas cakram yang sudah diberi ekstrak lamun merupakan zona hambat yang memberikan keterangan bahwa terjadinya inhibisi bakteri *Vibrio sp.* terhadap ekstrak lamun *Enhalus acoroides*. Hasil pengukuran zona hambat dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Hasil pengukuran zona hambat**

Perlakuan	Rata-rata zona Hambat (mm)	Standar klasifikasi zona hambat (mm)
Kontrol (Akuades)	9 mm	<5 mm = Lemah
Ekstrak Lamun Konsentrasi 80%	15 mm	5-10 mm = Sedang
Ekstrak Lamun Konsentrasi 100%	16 mm	10-19 mm = Kuat
		>20-30 mm = Sangat Kuat

Luas zona hambat yang dibentuk oleh senyawa aktif dapat diklasifikasikan kedalam empat golongan yaitu lemah dengan 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 20-30 mm (Suryawiria, 2005). Berdasarkan klasifikasi zona hambat di atas, hasil zona hambat dengan metode difusi *paper disk* dengan perlakuan ekstrak lamun konsentrasi 80% dan 100% termasuk kedalam golongan kuat.

Bahan aktif yang diduga ada dalam ekstrak lamun *Enhalus acoroides* yang berperan penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio sp.* adalah senyawa flavonoid dan polifenol. Dugaan golongan flavonoid dan polifenol terkandung dalam ekstrak lamun, karena ekstrak lamun menggunakan pelarut aquades. Sifat aquades sebagai pelarut polar mengakibatkan semua fraksi polar yaitu flavonoid dan polifenol dalam lamun akan terekstrak dalam aquades. Menurut Brooks dkk., (2005), mekanisme kerja senyawa flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara merusak membran sel dan mendenaturasi protein sel bakteri, sehingga menyebabkan bakteri mati.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa munculnya zona hambat yang kuat sehingga membuktikan kemampuan ekstrak lamun *Enhalus acoroides* mampu sebagai antibakteri *Vibrio sp* penyebab penyakit *ice-ice* pada rumput laut *Euचेuma cottonii* secara in vitro.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arisandi, Apri. (2011). Kecepatan dan Presentase Infeksi Penyakit *Ice-ice* pada *Kappaphycus alvarezii* di Perairan Bluti Sumenep. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, Vol. 3, No. 1:47-51.
- Ask El. & Azanza RV. (2002). Advances in cultivation technology of commercial *Euचेumatoid* species: a review with suggestions for future research. *Aquaculture*, 206(3/4):257-277.
- Brooks, G. F., Butel, J. dan S. Morse. (2005). Mikrobiologi Kedokteran. Alih Bahasa. *Salemba Medika*. Jakarta
- Cokrowati N. dkk. (2019). Eksplorasi dan Penangkaran Bibit Rumput Laut (*Euचेuma cottonii*) di Perairan Teluk Ekas Lombok Timur. *Jurnal Biologi Tropis*, 19 (1) : 51 – 53.
- Culot A. dkk. (2020). Isolation of *Harveyi* clade *Vibrio* spp. collected in aquaculture farms: how can the identification issue be addressed ?. *Journal of Microbiological Methods*. S0167-7012(20)30822-8.
- Farmer, J. & Michael Janda, J. (2015). *Vibrionaceae*. In W. B. Whitman et al. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Chichester, UK: *John Wiley & Sons, Ltd.* (pp. 1–7).
- 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.
- Hasan Merlenni. (2015). Pemodelan Spasial Sebaran Dan Kesesuaian Habitat Spesies Tumbuhan Asing Invasif Kirinyuh (*Austroeuचेatorium Inulifolium* (Kunth) R. M. King & H. Rob) Di Resort Mandalawangi Taman Nasional Gunung Gede Pangrango. Thesis. *Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor*. Bogor.
- Muhamad, A. (2017). Pengujian Antibakteri Ekstrak Daun Krinyuh Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio sp.* yang Menyebabkan Penyakit *Ice-ice* pada Rumput Laut (*Euचेuma cottonii*). Skripsi. *Program studi Teknobiologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Teknologi Sumbawa*. Sumbawa Besar.
- Suryawiria, U. (2005). Mikrobiologi Dasar. *Papas Sinar Sinanti*. Jakarta

- Takemura, A. F., Chien, D. M., & Polz, M. F. (2014). Associations and Dynamics of *Vibrionaceae* in The Environment, From The Genus to the Population Level. *Front. Microbiol.*, 5.
- Waji, R.A., dan Andis, S. (2009). Flavanoid (Quercetin). *Universitas Hasanuddin*. Makassar.
- Vairappan, C. S. (2006). Seasonal Occurences of Epiphytic algen on the Commercially Cultivated Red Alga *Kappaphycus alvarezii* (*Solieriaceae*, *Gigartinales*, *Rhodophyta*). *J. Appl. Phycol*, 18: 611-617.