POTENSI ANTIBAKTERI DIATOM LAUT *Skeletonema costatum* TERHADAP BAKTERI *Vibrio sp.*

Iriani Setyaningsih[1),] Lily M. Panggabean[2),] Bambang Riyanto[1),] Novita Nugraheny[3)]

Abstrak

Budidaya udang di Indonesia berkembang dengan cukup pesat karena udang merupakan salah satu sumber devisa bagi negara. Akan tetapi perkembangan ini menghadapi permasalahan seperti adanya penyakit bakterial. Salah satu bakteri patogen pada budidaya udang adalah *Vibrio* sp. Upaya untuk mengatasi hal ini dapat dilakukan antara lain dengan menggunakan bahan antibakteria *S. costatum*. Pada penelitian ini, kulitivasi diatum *S. costatum* dilakukan dalam botol *schott* yang berisi f medium yang dilengkapi dengan aerator dan cahaya dengan intensitas 2000 luks. Kulvitasi dilakukan pada suhu 25 ^{o}C. Kurva pertumbuhan *S. costatum* ditentukan dengan menghitung jumlah sel setiap harinya. Untuk ekstraksi antibakteri, kultur dipanen pada hari ke-6, selanjutnya dilakukan ekstraksi terhadap biomasanya dengan menggunakan metanol untuk mendapatkan ekstrak antibakteri. Ekstrak antibakteri ini diujikan pada bakteri *Vibrio* sp dengan metode difusi agar. Hasil pengujian terhadap aktivitas penghambatan bakteri tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar (*crude*) intraseluler *S. costatum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp dengan potensi hambatan (*inhibitor potention*) 75,47 % (pada konstertasi ekstrak 2000 ppm), 52,08 % (pada 1000 ppm), 30,43 % (pada 500 ppm), 23,81 % (pada 250 ppm) dan 15,79 % (pada 100 ppm) dibandingkan dengan kloramfenikol.

Key word: antibakteri*, Skeletonema costatum, Vibrio*

PENDAHULUAN

Budidaya udang secara komersial di Indonesia berkembang dengan cukup pesat. Hal ini dikarenakan udang mempunyai nilai ekonomis yang penting di pasaran internasional dan juga berperan untuk memenuhi keperluan domestik terhadap protein hewani. Pertumbuhan usaha budidaya udang dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya serangan bakteri dan pengendalian parameter kimia-fisika yang berupa pengontrolan pH, suhu serta BOD air.

Pada budidaya udang windu, penyakit vibriosis terjadi pada skala larva dan stadia dewasa. Larva udang windu yang terserang penyakit biasanya pada stadia *zoea*, *mysis* dan awal *post larva*. Penyakit vibriosis pada stadia larva terdiri dari penyakit berpendar dan penyakit udang bengkok, sedangkan pada stadia udang dewasa mengakibatkan terjadinya bercak coklat putih pada cangkangnya. Bakteri penyebab penyakit-penyakit tersebut berasal dari genus *Vibrio* (Sunaryanto *et al.*, 1987, Lovilla-Pitogho *et al.*, 1990).

---

1. Staf Pengajar Departemen Teknologi Hasil Perairan FPIK- IPB
2. Staf Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi, LIPI
3. Alumni Departemen Teknologi Hasil Perairan FPIK -IPB

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencegah timbulnya penyakit udang di tambak, antara lain melalui pengelolaan limbah dengan menggunakan tandon dan biofilter tetapi hasilnya belum memuaskan. Penggunaan antibiotik dan pestisida sering dilakukan petani untuk menanggulangi terjadinya serangan penyakit pada budidaya udang, namun tanpa disadari oleh petani, hal ini akan membawa dampak negatif terhadap lingkungan budidaya maupun terhadap udang yang dibudidayakan.

Tindakan pemberian antibiotik sintetik yang terus menerus dapat menimbulkan resistensi bakteri, meninggalkan residu pada udang yang selanjutnya dapat membahayakan konsumen (Taufik *et al.*, 1996). Sedangkan penggunaan pestisida secara berlebihan dapat menghambat perkembangan organisme nontarget seperti plankton dan bakteri pengurai, sehingga mengganggu sistem keseimbangan dalam lingkungan tambak.

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dicari alternatif pemecahannya, antara lain penggunaan bahan alami yang mengandung bioaktif, mudah terurai, dan dapat digunakan sebagai antibiotik. *S. costatum* merupakan salah satu jenis diatom yang dominan di laut dan tumbuh subur di perairan sekitar pantai terutama setelah musim hujan. Namun sejauh ini, *S. costatum* belum banyak dimanfaatkan sebagai salah satu penghasil antibakteri alami. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian ini, yang dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan diatom *S. costatum* dalam menghasilkan bahan antibakteri serta menentukan konsentrasi minimum untuk menghambat bakteri *Vibrio* sp.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengekstrak bahan antibakteri dari diatom *S. costatum*
2. Menentukan potensi hambatan ekstrak intraseluler terhadap kloramfenikol yang diperoleh untuk menghambat bakteri *Vibrio* sp.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah kultur diatom *S. costatum* yang merupakan koleksi Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi – LIPI, Jakarta Utara, medium f atau Guillard, pelarut organik metanol, bakteri *Vibrio* sp media

Thiosulfate Citrate Bile – Salt Sucrase Agar (TCBSA), media *Trypticase Soy Broth (TSB)*, air laut, akuades steril, *Dimetil Sulfoksida (DMSO),* serta antibiotik kloramfenikol.

Alat-alat yang digunakan adalah botol Schott berukuran 2 liter, tutup karet, pipet kaca, lampu TL 20 *watt, aerator, luxmeter, refractometer*, *alumunium foil*, selang silikon, *autoclave*, ruang *clean banch*, mikropipet, *ultracentrifuse,* sudip, *freezer*, *freeze dryer*, erlenmeyer, batang pengaduk, *ultrasonic*, gelas ukur, pipet serologis, inkubator, spektrofotometer, kertas filter, pinset, cawan petri, tabung reaksi, kapas, jarum ose, bunsen, dan *paper disc* 6 mm.

Pengkulturan Diatom *Skeletonema costatum*

Pengkulturan diatom *S. costatum* dilakukan dalam 2 tahap. Tahap pertama bertujuan untuk menentukan kurva serta umur panen dari diatom *S. costatum* pada medium f steril. Tahap pengkulturan *S. costatum* disajikan pada Gambar 1.

S. costatum

↓

Inokulasi 1 ml ke dalam 50 ml larutan medium steril
(aerasi, 7 hari)

↓

Scale up dengan menginokulasikan inokulum ke dalam 1000 ml medium
(aerasi, 6 hari)

↓

Pemanenan

Gambar 1. Proses pengkulturan *S. costatum*

Ekstraksi Bahan Antibakteri

Ekstraksi bahan antibakteri dari biomassa *S. costatum* dilakukan dengan modifikasi metode Naviner *et al*. (1999). Proses tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.

Pemanenan *S. costatum*

↓

Pemisahan
(Ultracentrifuse)

↓

Biomassa

↓

Pengeringan

↓

Biomassa kering

↓

Penambahan pelarut metanol

↓

Pemecahan sel

↓

Penyaringan dengan kertas saring Whatman dan penguapan dengan desikator

↓

Ekstrak kasar bahan antibakteri

Gambar 2. Proses ekstraksi bahan antibakteri

Pengujian Aktivitas Bahan Antibakteri

Ekstrak intraselular dan kloramfenikol yang akan diuji dilarutkan dalam DMSO dengan konsentrasi 2000, 1000, 500, 250, 100 ppm. Kertas cakram steril yang telah ditetesi dengan 25 μl ekstrak yang akan diuji tersebut (ekstrak intraselular maupun kontrol antibiotik kloramfenikol) diletakkan diatas agar. Cawan petri yang sudah berisi kultur bakteri dan ekstrak senyawa antibakteri disimpan dalam inkubator dengan posisi terbalik selama 18 jam pada suhu 30 ^{o}C. Diameter daerah penghambatan yang terbentuk pada cawan petri diukur dengan cara mengukur diameter hambatan yang terbentuk di sekeliling *paper disc* dikurangi dengan diameter *paper disc*. Besarnya diameter hambatan yang dibentuk oleh ekstrak intraselular kasar dapat dibandingkan dengan diameter kloramfenikol sebagai senyawa kontrol, sehingga dapat diketahui besarnya potensi hambatan ekstrak intraselluler. Rumus perhitungan potensi antimikroba adalah sebagai berikut :

$$\text{Potensi} = \frac{\text{Diameter hambatan senyawa yang diperiksa}}{\text{Diameter senyawa kontrol dengan konsentrasi sama}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

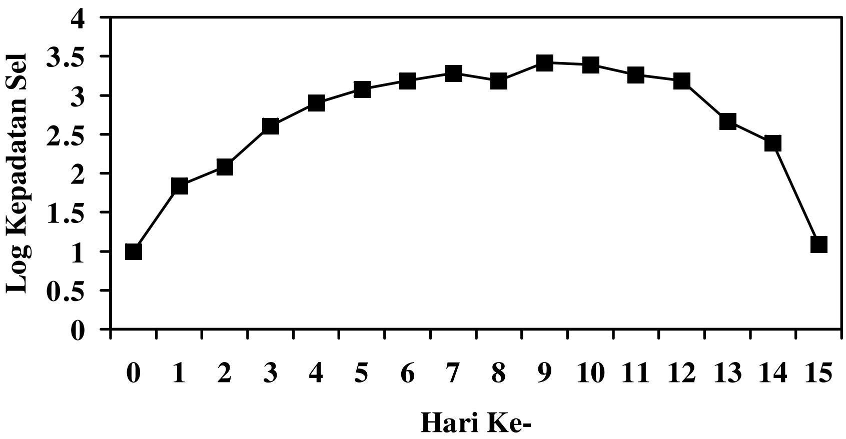
Kurva Pertumbuhan *S. costatum*

Pola pertumbuhan *S. costatum* mengikuti model pertumbuhan logaritmik, yaitu dimulai dari fase log atau eksponensial, fase penurunan laju pertumbuhan, fase stationer, dan fase kematian. Pada kultur *S. costatum*, waktu terjadinya fase lag diduga karena kultur telah mengalami adaptasi sebelumnya, yaitu dengan penyegaran yang telah dilakukan berkali-kali di Puslitbang Oseanologi – LIPI sehingga dihasilkan inokulum yang bermutu tinggi untuk skala kultur selanjutnya.

Fase log atau eksponensial *S. costatum* berlangsung dari awal kultivasi sampai hari ke-4 dengan log kepadatan 1,0–2,9 sel/ml. Pada fase ini kultur mengalami peningkatan jumlah sel yang sangat besar karena sel mulai mengalami pembelahan dengan cepat dimana kecepatan pembelahan sel *S. costatum* yang berasal dari daerah tropis berlangsung sekitar 4 jam, tergantung kondisi lingkungan (Arinardi *et al*., 1997).

Pada hari ke-5 kultur mengalami peningkatan jumlah sel yang lambat pada log kepadatan 3,08 sel/ml. Fase ini disebut sebagai fase penurunan laju pertumbuhan dengan warna kultur sama seperti akhir fase log. Turunnya laju pertumbuhan mikroalga disebabkan oleh 3 hal, yaitu berkurangnya mikronutrien sebagai faktur pembatas karena telah banyak dimanfaatkan selama fase eksponensial, adanya toksik yang dihasilkan oleh alga itu sendiri sebagai hasil dari metabolisme dan berkurangnya proses fotosintesis akibat bertambahnya jumlah sel sehingga hanya bagian permukaan kultur saja yang memperoleh cahaya (Riley dan Chester, 1971).

Fase stasioner dimulai pada hari ke-6 sampai hari ke-12 dengan log kepadatan sel berkisar antara 3,17 sampai 3,43 sel/ml. Pada fase ini sel tidak mengalami peningkatan maupun penurunan laju pertumbuhan sehingga jumlah sel pada fase ini tetap.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan *S. costatum*

Fase kematian kultur *S. costatum* dimulai sejak hari ke–13 dengan log kepadatan sel 2,67 sel/ml yang ditandai dengan warna kultur yang menjadi kuning keputihan. Sel yang mati terlihat tidak membentuk koloni, bagian dalam cangkang terlihat kosong serta terjadi penumpukan cangkang yang tidak beraturan. Kondisi tersebut disebabkan oleh adanya produk toksik yang dihasikan mikroalga dan habisnya nutrien di dalam medium sehingga sel tidak dapat bertahan hidup.

Hasil Ekstraksi Bahan Antibakteri *S. costatum*

Kultur diatom *S. costatum* dipanen pada awal fase stationer, yaitu pada hari ke–6. Metabolit sekunder yang berupa karbon organik lebih banyak dihasilkan pada fase lag dan fase stationer daripada fase log. Akan tetapi tidak pada setiap kondisi suatu metabolit dapat dihasilkan, tergantung pada pH, salinitas, kondisi aerob/anaerob, cahaya dan nutrisi (Hellebust 1879 yang dikutip Stewart, 1974).

Sebanyak 7 liter kultur *S. costatum* dipisahkan dengan *ultrasentrifuge* dengan kecepatan 18.000 rpm yang bertujuan untuk memisahkan antara filtrat dan biomassa. Banyaknya biomassa yang didapat adalah 4,473 g (berat basah) dan setelah dikeringkan dengan *freeze dryer* diperoleh serbuk biomassa sebesar 1,810 g. Serbuk biomassa dilarutkan dengan pelarut metanol dengan perbandingan 1 : 25 (b/v) kemudian dipecah selnya menggunakan *ultrasonic*, selanjutnya disaring dengan kertas Whatman no. 42 untuk memisahkan antara presipitat (padatan) dan supernatan (cairan). Supernatan yang telah dipisahkan ditempatkan dalam desikator dengan tujuan menguapkan pelarut metanol sehingga didapatkan bahan antibakteri berupa serbuk berwarna hijau dengan berat 0,208 g.

Hasil Pengujian Aktivitas Ekstrak Intraselular terhadap *Vibrio* sp

Ekstrak intraselular yang akan diuji, terlebih dahulu dilarutkan dengan DMSO dengan konsentrasi 2000, 1000, 250, dan 100 ppm. Penggunaan DMSO dimaksudkan untuk melarutkan dan menstabilkan ekstrak intraselular yang akan diujikan dan penggunaannya bertujuan untuk mencegah kerusakan bahan farmasi selama dilakukan penyimpanan (Singleton dan Sainsbury, 1980 dan Bains, 1995). Kertas cakram yang berukuran 6 mm ditetesi dengan bahan yuang akan diuji kemudian diletakkan pada cawan petri yang berisi media TCBSA yang telah diinokulasikan dengan 25 µl *Vibrio* sp. Setelah diinkubasi dalam inkubator selama 18 jam pada suhu 30 ^{o}C, maka sensitivitas terkecil dari zat tersebut dapat ditentukan dengan adanya zona bening terkecil yang masih dapat dibentuk oleh konsentrasi terkecil ekstrak intraselular. Zona bening diukur dalam milimeter dengan cara mengukur seluruh garis tengah zona bening dikurangi diameter kertas cakram. Hasil pengujian aktivitas ekstrak kasar intraselular *S.costatum* terhadap bakteri *Vibrio* sp dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter penghambat ekstrak kasar intraseluler *Skeletonema costatum* terhadap Bakteri *Vibrio* sp.

Konsentrasi (ppm)	Jenis Bahan Bakteri	Diameter Hambatan (mm)	Potensi Hambatan (%)
2000	Ekstrak intraselular (A) Kloramfenikol (B)	20 26,5	75,47
1000	Ekstrak intraselular (A) Kloramfenikol	12,5 24	52,8
500	Ekstrak intraselular (A) Kloramfenikol	7 23	30,43
250	Ekstrak intraselular (A) Kloramfenikol	5 21	23,81
100	Ekstrak intraselular (A) Kloramfenikol	3 19	15,79

Apabila diameter daerah penghambatan *inhibitor zone diameter* yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm maka bakteri tersebut dikategorikan "sensitif" terhadap bahan antibakteri yang diujikan tetapi jika diameter yang terbentuk kurang dari 6 mm maka bakteri tersebut dikategorikan resisten terhadap senyawa antibakteri yang diujikan (Bell, 1984).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas ekstrak intraseluler *S. costatum* dapat ditentukan bahwa konsentrasi hambatan minimum adalah 500 ppm dengan kandungan ekstrak intraselular sebesar 12,5 μg dalam 25 μl pelarut. Pada konsentrasi tersebut ekstrak intraselular dan kloramfenikol mempunyai diameter hambatan sebesar 7 mm dan 23 mm serta potensi hambatannya 30,42 % artinya kemampuan ekstrak intraselular dari *S. costatum* dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. sebesar 35,43 % dibandingkan dengan kloramfenikol. Ekstrak intraselular *S. costatum* dan kloramfenikol merupakan antibakteri yang bersifat bakteriostatik, yaitu hanya mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. tapi tidak membunuh. Hal tersebut terbukti dengan munculnya sejumlah koloni *Vibrio* sp. pada zona bening ekstrak intraselular pada jam ke–24 dan pada zona bening kloramfenikol pada jam ke–36. Akan tetapi sifat bakteriostatik ini dapat berubah memberikan efek bakterisidal apabila konsentrasi ekstrak yang digunakan semakin besar. Mekanisme yang bersifat bakterisidal akan mempengaruhi bakteri dengan merusak dinding selnya sehingga akan pecah dan bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar, atau mengganggu keutuhan membran sel bakteri sehingga pertukaran zat aktif atau metabolit ke dalam dan keluar sel akan terganggu (Pelczar dan Chan, 1988).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kultur *S. costatum* sebanyak 7 liter menghasilkan biomassa sel sebesar 1,810 g dan ekstrak intraseluler diatom *S. costatum* yang terbentuk serbuk berwarna hijau sebesar 0,208 g.

Ekstrak kasar *S. costatum* mengandung bahan antibakteri yang mampu menghambat bakteri patogen *Vibrio* sp. Besarnya potensi hambatan ekstrak intraseluler *Skeletonema costatum* dibandingkan dengan kloramfenikol pada konstrasi 2000 ppm adalah 75,47 %. Pada konsentrasi 1000 ppm adalah 52,08 %, pada konsentrasi 500 ppm adalah 30,43 %, pada konsentrasi 250 ppm adalah 23,81 %, dan pada konsentrasi 100 ppm adalah 15,79 %. Konsentrasi hambatan minimum ekstrak intraselular kasar dan kloramfenikol sebagai kontrol adalah 7 mm dan 23 mm.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu pemurnian ekstrak intraseluler kasar untuk mendapatkan ekstrak intraseluler dari *Skeletonema costatum* yang lebih murni serta pengujiannya dan penentuan konsetrasi hambatan minimum ekstak intraseluler kasar ataupun murni terhadap bakteri patogen lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Arinadi OH, Sutomo AB, Yusuf SA, Trimaningsih, Asnaryanti E dan Riyono SH 1997. Pengantar Tentang Plankton Serta Kisaran Kelimpahan dan Plankton Predominan di Sekitar Pulau Jawa dan Bali. Puslitbang Oseanologi LIPI. Jakarta.

Bains W. 1995. *Biotechnology from A to Z.* Oxford

Bell, S.M. 1984. Antibiotic sensitivity testing by the CDS Methods. Dalam *Clinical Microbiology Up date Program*. Editor: Hartwig, N. The Prince of Wales Hospital/ New South Wales.

Lavilla-Pitogo CR, Baticados LL, Cruz Lacierda ER dan de la Pena LD. 1990. Occurrence of luminous bacterial disease of Penaeus monodon larvae in the Philippines. *Journal Aquaculture*. Vol. 91. Elsevier Published.

Naviner M, Berge JP, Durand, Le Bris H. 1999. Antibacterial activity of the marine diatom *Skeletonema costatum* against aquacultural patogens. *J. of Aquaculture* Vol. 174. Elsevier Published.

Riley, Chester. 1971. *Introduction to Marine Chemistry*. Academic Press Inc. London.

Singbetor P. 1997. *Bacteria in Biology. Biotechnology and Medicine*. Fourth Edition. John Wiley and Sons. UK.

Singleton, Sainsbury. 1980. *Dictionary of Microbiology*. John Wiley and Sons. Ltd. Great Britain.

Stewart, D.P. 1974. *Algal Physiology and Biochemistry*. Blackwell Scientific Published. London.

Sunaryanto A, Mariam A, Pudjianto. 1987. *Penyakit udang*. INFIS Manual Seri No. 43. Dirjen Peikanan Jakarta.

Taufik I, Koesharyani I, , Roza D. 1996. Pemanfaatan fitoplanton untuk menekan perkembangan bakteri bercahaya (*Vibrio harveyi*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Vol. 11. No. 2.*