

Daya Hambat Ekstrak Kuda Laut (*Hippocampus spinosissimus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio alginolyticus*

Inhibiting Capability Ethanol Extract of Seahorses (*Hippocampus spinosissimus*) for Bacteria Growth *Vibrio alginolyticus*

Grace P. Panjaitan^{1*}, Dessy Yoswaty², Nursyirwani²

¹Mahasiswa Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

²Dosen Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

*Email: gracepanjaitan27@gmail.com

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah menguji daya hambat ekstrak kuda laut (*Hippocampus spinosissimus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016 sampai Januari 2017 di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan, Universitas Riau. Ekstrak etanol kuda laut memiliki kandungan kimia steroid/triterpenoid, saponin dan glikosida serta memiliki efek sitotoksik Uji daya hambat dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan empat konsentrasi ekstrak (100%, 50%, 25% dan 12,5%). Dari hasil penelitian yang dilakukan ditemukan bahwa rata-rata diameter zona daya hambat ekstrak kuda laut tertinggi terdapat pada konsentrasi 100% (3,67 mm) sedangkan yang terendah terdapat pada konsentrasi 25% (0,73%). Ekstrak kuda laut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* dengan potensi lemah dengan nilai rata-rata diameter zona daya hambat <5 mm. Ekstrak kuda laut cenderung bersifat bakteriostatik.

Kata Kunci: Ekstrak kuda laut, etanol, antibacterial, pertumbuhan, *Vibrio alginolyticus*

Abstract

The aim of research was to find out whether the ethanol extract of seahorses (*Hippocampus spinosissimus*) had an antibacterial effect on *Vibrio alginolyticus*. This research was conducted from December 2016 to January 2017 in Marine Microbiology Laboratory of Marine Science, Riau University. Ethanol extract of seahorse has been contents chemical compounds such as steroid/triterpenoid, saponin, glycoside, and cytotoxic effect. The inhibiting capability test was conducted with experimentally by uses four extract concentration (100%, 50%, 25%, 12,5%). The average clear zone diameter of seahorse extracts was highest at concentration of 100% (3.67 mm), and the lowest was in concentration of 25% (0.73). Seahorses extract had ability to inhibit the growth of *V. alginolyticus* at low potential with the average clear zone diameter of <5 mm. Seahorse extracts were tend to be bacteriostatic.

Keywords: Seahorse extract, ethanol, antibacterial, growth, *Vibrio alginolyticus*

1. Pendahuluan

Kuda laut merupakan salah satu sumber hayati laut yang memiliki nilai komersial dan telah banyak diperdagangkan terutama sebagai bahan baku obat-obatan tradisional, ikan hias dan souvenir. Hal ini menyebabkan kuda laut mempunyai nilai ekonomis yang tinggi di pasaran domestik maupun di luar negeri (Syafiuddin, 2010).

Kuda laut atau sering disebut juga sebagai tangkur kuda (*Hippocampus* sp.) merupakan jenis ikan yang dimanfaatkan untuk bahan obat-obatan dalam bentuk tepung. Di Cina, obat dari tangkur kuda ini disebut “ginseng dari Selatan”. Baru-baru ini, meningkat laporan pada bidang farmakologis mengenai *Hippocampus* dan kemampuannya sebagai antioksidan, mencegah tumor, mencegah penuaan, tonik untuk memulihkan tubuh dari kelelahan dan mencegah hipertensi serta untuk pengobatan radang sendi, yang mengindikasikan bahwa kuda laut memiliki potensi yang besar untuk penelitian dan pemanfaatan lebih lanjut (Chen *et al.*, 2014).

Beberapa jenis dari genus *Hippocampus*, dengan nama umum kuda laut, telah digunakan di Cina selama ribuan tahun sebagai obat tradisional Cina (TCM) yang sangat penting dan berharga. Lima jenis telah tercatat dalam farmakope Cina dengan sebutan Haima. Menurut teori pengobatan tradisional Cina, fungsi utama kuda laut adalah untuk obat penguat ginjal dan mengaktifkan sisi maskulin dalam kepercayaan Cina / activating Yang (Qian *et al.*, 2008).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Satria (2014) ditemukan bahwa ekstrak etanol kuda laut dapat dikembangkan menjadi senyawa antikanker serta memiliki selektivitas yang baik. Penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri yang diisolasi dari usus dan lendir kuda laut terhadap bakteri *Vibrio* juga pernah dilakukan oleh Balcazar *et al.*, (2010). Bakteri laut diisolasi dari isi usus dan lendir kulit kuda laut untuk memproduksi senyawa antibakteri yang melawan bakteri patogen jenis *Vibrio*. Mekanisme persaingan tersebut memberikan kemungkinan mikroorganisme antagonisme digunakan sebagai agen kontrol biologis

Vibrio merupakan bakteri patogen yang paling berbahaya bagi ikan laut. Bakteri tersebut bertanggung jawab dalam menyebarkan penyakit vibriosis dan menyebabkan angka kematian yang tinggi (Balcazar *et al.*, 2010). Bakteri patogen utama yang sering menyerang udang maupun ikan terutama ikan kerapu adalah bakteri *Vibrio alginolyticus*.

Selama ini, pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Akan tetapi, penggunaan antibiotik ternyata dapat menimbulkan efek samping bagi patogen itu sendiri maupun terhadap ikan yang dipelihara. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antimikroba menjadi tidak efektif.

2. Bahan dan Metode

2.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Desember 2016 sampai Januari 2017. Ekstraksi kuda laut dilakukan di Laboratorium Kimia Laut Jurusan Ilmu Kelautan dan proses evaporasi di Laboratorium Bahan Alam dan Mineral Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Riau. Analisis daya hambat ekstrak kuda laut dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

2.2 Pengambilan Sampel dan Pengukuran Kualitas Perairan

Sampel kuda laut diperoleh dari perairan Rupert Utara, Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau (Gambar 1). Kuda laut diambil secara acak dari empat stasiun, yaitu Pulau Beruk Selatan, Pulau Beruk Utara, Pulau Siating dan Pulau Pajak. Kuda laut dimasukkan ke dalam plastik dan disimpan di dalam *cool box* sampai ditangani untuk pembuatan ekstrak kuda laut.

Parameter kualitas perairan yang diukur adalah suhu, salinitas, kecerahan, kecepatan arus, oksigen terlarut dan derajat keasaman (pH).

2.3 Pembuatan Ekstrak Kuda Laut

Bubuk yang telah halus kemudian dimaserasi dengan larutan etanol dengan perbandingan 1: 2 selama 48 jam. Ekstrak disaring dengan kertas saring Whatman dan diuapkan pada suhu 40°C menggunakan *rotary evaporator* (Jawet *et al.*, dalam Amin, 2015). Bubuk kuda laut yang telah dihaluskan sebesar 38,50 gr. Bubuk kuda laut kemudian dimaserasi selama 24 jam dengan total tiga kali pengulangan. Hasil maserasi tersebut selanjutnya dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak. Ekstrak yang didapatkan kemudian dikering anginkan se-

lama 3 hari untuk menguapkan sisa-sisa pelarut yang masih tersisa. Hasil yang didapat dari proses ekstraksi sebanyak 40 ml.

Pembuatan konsentrasi ekstrak 12,5%, 25%, 50%, dan 100% dilakukan di dalam *laminar flow*. Ekstrak kuda laut diencerkan dengan etanol murni sesuai dengan rumus $V1 \times N1 = V2 \times N2$. Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak kuda laut 50%, diambil 1 ml konsentrasi ekstrak kuda laut 100% dan dicampurkan dengan etanol 1 ml. Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak kuda laut 25%, diambil 1 ml konsentrasi ekstrak kuda laut 50% dan dicampurkan dengan etanol 1 ml. Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak kuda laut 12,5%, diambil 1 ml konsentrasi ekstrak kuda laut 25% dan dicampurkan dengan etanol 1 ml (Amin, 2015).

2.4 Pembuatan Media Agar dan Penyediaan Suspensi Bakteri

Pembuatan media agar dilakukan dengan memanaskan media agar NB sebanyak 0,13 gr yang telah dicampurkan dengan aquades steril sebanyak 10 ml kemudian dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* kemudian disterilisasi. Selanjutnya di tuang ke tabung reaksi sebanyak 10 ml. Prosedur pembuatan media agar MHA dilakukan dengan mencampurkan media agar MHA sebanyak 1,53 g dengan air aquades sebanyak 45 ml selanjutnya dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* lalu disterilkan dan dituang ke dalam cawan petri masing-masing 15 ml.

Prosedur penyediaan suspensi bakteri diawali dengan mencari biakan murni bakteri *V. alginolyticus*. Biakan murni bakteri *V. alginolyticus* tersebut diperoleh dari kultur yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Kelautan, UR. Koloni-koloni yang tumbuh kemudian dibuat suspensi bakteri uji yang diinokulasikan pada media agar MHA. Pembuatan suspensi bakteri, kultivasi bakteri pada media MHA, pembuatan cakram berisi ekstrak, dan meletakkan cakram ke agar dilakukan di dalam *laminar flow*.

2.5 Uji Daya Hambat

Uji daya hambat ekstrak kuda laut terhadap bakteri *V. alginolyticus* dilakukan dengan metode Cakram *disk diffusion* (Jawetz *et al.*, 2005). Isolat bakteri *V. alginolyticus* ditumbuhkan dalam media agar NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28⁰-30⁰C. Kemudian bakteri yang sudah tumbuh, suspensi bakteri diambil sebanyak 100 ml dan disebar menggunakan *glass rod* pada media MHA, didiamkan selama ± 5 menit. Cakram yang telah ditetesi ekstrak kuda laut dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5% serta cakram kontrol positif dan negatif diletakkan pada inokulasi bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28⁰-30⁰C. Zona hambat dihitung dengan mengukur diameter zona jernih disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengukuran Kualitas Perairan

Rupat Utara terletak di wilayah bagian utara dari Kabupaten Bengkalis yang berbatasan langsung dengan Selat Malaka yang berjarak 25 mil menuju Port Dickson Malaka, dan mempunyai bentangan pantai pasir putih ± 12 km yang terletak di Desa Tanjung Punak hingga Teluk Rhu, yang berhadapan langsung dengan Selat Malaka yang merupakan jalur lintas kapal-kapal internasional dan juga sebagai wilayah wisata bahari. Hasil pengukuran parameter kualitas perairan yang pada stasiun pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Parameter kualitas Perairan

Parameter	I	II	III	IV
Stasiun				
Suhu (°C)	30,5	32,4	32,8	31
Salinitas (ppt)	30	30	30	30
Kecerahan (NTU)	30	45	63	70,5
Kecepatan Arus (m/s)	0,8	1,4	0,8	1,2
pH	8,4	8,3	8,4	8,3
DO (ppm)	7,2	7,2	7,9	7,4

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa hasil dari pengukuran parameter perairan menunjukkan kondisi perairan yang sesuai bagi kehidupan biota laut berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 51 tahun 2004.

3.2 Daya Hambat Ekstrak Kuda Laut terhadap Pertumbuhan Bakteri *V. alginolyticus*

Hasil uji daya hambat atau aktivitas antibakteri diperoleh dari pengukuran diameter daerah hambat atau zona bening (*clear zone*). Daerah zona bening tersebut diukur di daerah sekitar kertas cakram. Hasil uji daya hambat antibakteri ekstrak kuda laut terhadap pertumbuhan *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa diameter zona hambat tertinggi yaitu terdapat pada konsentrasi 100% dan diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 25%. diameter zona hambat ekstrak kuda laut yang tertinggi pada konsentrasi 100% pada ulangan kedua dan ketiga (4 mm), pada konsentrasi 50% diameter zona hambat tertinggi terdapat pada ulangan pertama (1 mm), kemudian daya hambat tertinggi pada konsentrasi 25% adalah pada ulangan pertama dan kedua (1 mm) sedangkan pada konsentrasi 12,5% zona hambat tertinggi adalah ulangan kedua (1,2 mm).

Diameter zona hambat terendah pada konsentrasi 100% terdapat pada ulangan pertama (3 mm), diameter zona hambat terendah pada konsentrasi 50% terdapat pada ulangan ketiga (0,5 mm). Diameter zona hambat terendah pada konsentrasi 25% terdapat pada ulangan ketiga (0,2 mm), diameter zona hambat terendah pada konsentrasi 12,5% terdapat pada ulangan ketiga (0,5 mm). Berdasarkan diagram diatas dapat dilihat bahwa diameter zona hambat tertinggi yaitu 4 mm terdapat pada konsentrasi 100% dan diameter zona hambat terendah yaitu 0,2 mm terdapat pada ulangan ketiga konsentrasi 25%. Nilai tertinggi dan terendah diameter zona hambat antibakteri *V. alginolyticus* berkisar antara 0,2 – 4 mm. Untuk lebih jelasnya perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Kloramfenikol sebagai kontrol positif merupakan antibiotik yang mempunyai spektrum luas dan aktif terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, bersifat bakteriostatik. Antibiotik ini dapat dijadikan sebagai pembanding untuk hasil cakram yang diuji potensi antibiotik atau antibakterinya. Besar diameter zona hambat pada kloramfenikol menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki antibiotik terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

Hasil uji kontrol negatif menggunakan etanol, hasilnya tidak memiliki zona hambat (0 mm) pada ketiga ulangan. Hal ini mengindikasikan bahwa pelarut etanol tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*.

Pada umumnya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona hambat juga semakin besar. Namun, ada juga penurunan luas zona hambat pada konsentrasi yang lebih besar seperti yang terjadi pada konsentrasi 25% (Tabel 2). Sesuai dengan pendapat Elifah (2010), dimana diameter hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, hal ini terjadi dimungkinkan karena adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar, serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter daerah hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu.

Menurut Katzung (2001) dan Bourne dan Von Zastrow (2001), konsentrasi mempengaruhi daya kerja obat terhadap bakteri. Akan tetapi, peningkatan konsentrasi tidak selalu diikuti oleh peningkatan efek. Konsentrasi hambat minimal (KHM) adalah konsentras terkecil dari antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bak-

Tabel 2. Daya Hambat Ekstrak Kuda Laut Terhadap Pertumbuhan Bakteri *V. alginolyticus*

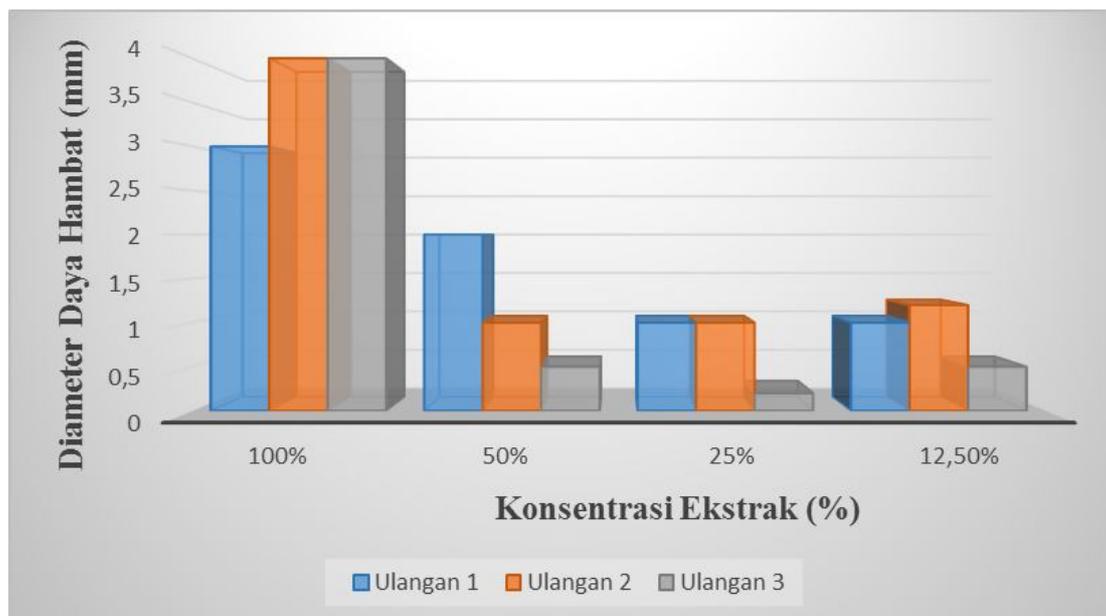
No.	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rataan ± Standar Deviasi
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
1.	100%	3	4	4	3,67 ± 0,57 ^a
2.	50%	2	1	0,5	1,17 ± 0,76 ^a
3.	25%	1	1	0,2	0,73 ± 0,46 ^b
4.	12,50%	1	1,2	0,5	0,90 ± 0,36 ^a
5.	Kloramfenikol	15	10	20	15,00 ± 5,00
6.	Etanol	0	0	0	0,00 ± 0,00

*hasil diatas sudah dikurangi diameter paper disc 6 mm

*a memiliki perbedaan yang signifikan terhadap b

*kloramfenikol sebagai kontrol positif

*etanol sebagai kontrol negatif



Gambar 2. Perbedaan Daya Hambat pada Masing-Masing Konsentrasi Ekstrak Kuda Laut (*H. spinosissimus*)

teri yang terlihat secara *in vitro*.

Aktivitas antibakteri ekstrak kuda laut menyebabkan perbedaan diameter zona hambat pada konsentrasi yang berbeda. Hal ini dipengaruhi oleh interaksi senyawa-senyawa yang ada dalam ekstrak tersebut. Konsentrasi ekstrak yang memungkinkan terjadinya interaksi optimal akan memberikan aktivitas dan daya hambat yang optimal pula, tidak tergantung pada besar kecilnya konsentrasi tersebut (Harbone dan Hansel dalam Siregar, 2011). Selain itu, kemampuan bakteri dalam melawan antibakteri juga berbeda tergantung ketebalan dan penyusun dinding selnya.

4. Kesimpulan

Ekstrak kuda laut memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus*, namun potensi lemah dengan nilai rata-rata diameter zona hambat < 5 mm. Perbedaan konsentrasi ekstrak juga mempengaruhi luas daerah hambat yang terbentuk. Ekstrak kuda laut cenderung bersifat bakteriostatik.

5. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa bioaktif yang terkandung pada kuda laut, menguji daya hambat ekstrak pada bakteri patogen yang lain, pembuatan ekstrak kuda laut terpurifikasi dan penggunaan pelarut lain selain etanol.

6. Referensi

Amin, F. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* secara *In vitro*. Universitas Riau. Pekanbaru.

Balcazar, J. L., L. Sara, J. D. S. Yolanda., P. Jose, and P. Miquel. 2010. Identification and Characterization of Bacteria with Antibacterial Activities Isolated from Seahorses (*Hippocampus guttulatus*). *The Journal of Antibiotics*. Diakses 9 Oktober 2016. 63 (5) : 271 hal.

Bourne H. R., M. V. Von Zastrow. 2001. Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 1. Salemba Medika. Jakarta.

Chen, L., Xiaoyu Wang, and Baokang Huang. 2014. The genus Hippocampus-A Review on Traditional Medicinal Uses, Chemical Constituents and Pharmacological Properties. *Journal of Ethnopharmacology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.032>. Hal 8-26.

- Elifah, E. 2010. Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum*, D. Don) Terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya [Skripsi]. UNS. Surakarta.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, dan E. A. Adelberg. 2005. Mikrobiologi Kedokteran, Diterjemahkan oleh Maulany, R.F., & Edinugroho. Jakarta.
- Katzung, B.G. 2001. Farmakologi Dasar dan Klinik. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Kep. MENLH NO. 51 Tahun 2004. Surat Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup mengenai Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut.
- Panjaitan, G. 2017. Daya Hambat Ekstrak Kuda Laut (*Hippocampus spinosissimus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Universitas Riau.
- Qian, Z.J., B.M. Ryu, M.M. Kim, S.K. Kim. 2008. Free Radical and Reactive Oxygen Species Scavenging Activities of The Extracts From Seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeler. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 13, 705-715.
- Satria, D. 2014. Elusidasi Struktur Senyawa Aktif Kuda Laut (*Hippocampus trimaculatus* Leach). Terhadap Sel Mcf-7 [Tesis]. <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/47570>. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Siregar, M. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. (Skripsi). Universitas Riau.
- Syafiuddin. 2010. Studi Aspek Fisiologi Reproduksi : Perkembangan Ovarium dan Pemijahan Kuda Laut (*Hippocampus barboursi*) Dalam Wadah Budidaya. Disertasi. Program Studi Ilmu Perairan Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.