

Deteksi Senyawa Bioaktif Rotifera *Brachionus rotundiformis* dari Perairan Laut Sulawesi Utara

Detection of Bioactive Compounds in Rotifers Brachionus rotundiformis from North Sulawesi Seawaters

Joice R.T.S.L Rimper

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado
E-mail : joyce_mdo@yahoo.com

Diterima : 9 Mei 2014. Disetujui : 16 Juni 2014

ABSTRACT

Rotifers are one potential plankton to have bioactive compounds. This study is an initial step to reveal the presence of bioactive compounds in rotifers and is expected to bring a breakthrough in the discovery of indigenous bioactive compounds. Plankton was collected with plankton nets by pulling the nets horizontally on the surface of the waters. For extraction, *Brachionus rotundiformis* was cultured with different salinity. Micro algae were used as rotifer feed. It is a kind of *Nannochloropsis oculata*. with salinity of 4 ppt, 40 ppt, 50 ppt and 60 ppt. Tested bacteria was *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. Comparator antibiotics were amoxicillin and tetracycline. Paper disc method was used measure antibacterial activity. Antibacterial activity of *B. rotundiformis* was measured. Antibacterial activity of *B. rotundiformis* was measured. They were cultured on salinity of 4 ppt, 20 ppt, 40 ppt, 50 ppt, 60 ppt with *N. oculata* feed. The results showed most large clear zone formed by *B. rotundiformis* cultured on 40 ppt salinity to inhibit *E. coli*, it was 4.66 mm in diameter. In general, 40 ppt salinity is the most potential trigger of *B. rotundiformis* to produce antibacterial compounds compared with lower or higher salinity. The antibacterial activity was affected by different salinity.

Key words : rotifers, *Brachionus rotundiformis*, bioactive compound, salinity.

ABSTRAK

Rotifera merupakan salah satu jenis plankton yang mempunyai potensi sebagai penyedia senyawa bioaktif. Penelitian ini merupakan langkah awal dalam mengungkapkan keberadaan senyawa-senyawa bioaktif pada rotifera dan diharapkan akan membawa terobosan dalam penemuan senyawa-senyawa bioaktif unggulan khas tropis. Pengambilan sampel plankton dilakukan dengan cara menarik jaring plankton secara horisontal di permukaan perairan. Untuk kebutuhan ekstraksi, *Brachionus rotundiformis* dikultur dengan salinitas berbeda. Alga mikro yang digunakan sebagai pakan rotifera adalah jenis *Nannochloropsis oculata* dengan salinitas 4 ppt, 40 ppt, 50 ppt dan 60 ppt. Bakteri uji yang digunakan adalah *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Antibiotik pembanding yang digunakan adalah amoksisilin dan tetrasiklin. Metode pengujian antibakteri yang digunakan adalah metode agar kertas cakram (*paper disc method*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pengujian aktivitas antibakteri dari *B. rotundiformis* yang dikultur pada salinitas 4 ppt, 20 ppt, 40 ppt, 50 ppt, 60 ppt dengan pakan *N. oculata* terhadap tiga bakteri uji *V. cholerae*, *B. subtilis*, dan *E. coli* terlihat adanya pembentukan zona bening. Zona bening paling besar terbentuk pada bakteri *E. coli* salinitas 40 ppt yaitu 4,66 mm. Secara umum salinitas 40 ppt adalah yang paling potensial memicu *B. rotundiformis* memproduksi senyawa antibakteri dibandingkan dengan salinitas yang lebih rendah atau lebih tinggi. Aktivitas antibakteri yang terdeteksi dipengaruhi oleh salinitas yang berbeda.

Kata kunci : rotifera, *Brachionus rotundiformis*, senyawa bioaktif, salinitas.

PENDAHULUAN

Lautan merupakan gudang mineral, nutrisi dan senyawa bioaktif yang terkandung dalam biota laut yang beranekaragam. Rotifera adalah golongan zooplankton yang telah dimanfaatkan oleh para operator Balai Benih Fauna Laut sebagai pakan alami, juga merupakan salah satu jenis plankton yang mempunyai potensi sebagai penyedia senyawa bioaktif. Iklim tropis dapat menghasilkan fluktuasi parameter lingkungan yang cukup tinggi sehingga dapat menyebabkan kehidupan biota laut berinteraksi satu dengan lainnya dengan sangat dinamis, yang membuat organisme didalamnya dipacu untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa yang diperlukan untuk mempertahankan kelangsungan hidup baik sebagai upaya pertahanan diri terhadap predator maupun perbaikan genetisnya untuk diturunkan ke generasi berikutnya. Senyawa metabolit sekunder ini umumnya sangat bermanfaat bagi manusia sebagai senyawa bioaktif yang bernilai tinggi. Keragaman kondisi ini juga akan berpengaruh terhadap keanekaragaman organisme laut serta senyawa bioaktif yang dihasilkan. Keragaman biota laut yang tinggi mendorong eksplorasi senyawa bioaktif dari biota laut yang dapat dikultur tanpa mengganggu kelestarian laut. Banyak peneliti telah mulai menggali informasi lebih lanjut kemungkinan pemanfaatan senyawa bioaktif tersebut untuk dapat digunakan bagi keperluan medis. Senyawa bioaktif yang telah diekstraksi dari organisme laut seperti spons, menunjukkan adanya aktifitas farmakologi yang sangat potensial untuk dikembangkan. Temuan yang positif pada spons telah dilaporkan oleh Kerr, Russel dalam Widjhati *et al.* (2004) yang menunjukkan adanya indikasi kaitan antara spons dengan efek antikanker dan antibiotik. Namun demikian, senyawa bioaktif dari plankton belum banyak dikembangkan.

Hasil penelitian pendahuluan di Sulawesi Utara telah dijumpai rotifera *Brachionus rotundiformis* menghuni perairan estuari dan tambak. Dalam mempertahankan eksistensinya, *B.*

rotundiformis memiliki sifat biologis yang unik yaitu mampu merubah pola reproduksi jika kondisi lingkungan berubah. Agar dapat melakukan perubahan pada reproduksi tersebut, rotifera akan menghasilkan senyawa tertentu yang dapat berfungsi sebagai agen perubahan reaksi fisiologis yang disebut senyawa bioaktif. Sementara itu rotifera dari daerah tropis masih belum banyak dikaji termasuk kandungan senyawa bioaktifnya. Oleh karena itu perlu adanya penelitian yang lebih mendalam tentang kandungan senyawa bioaktif pada kondisi lingkungan yang berbeda. Informasi tentang senyawa potensial pada rotifera *B. plicatilis* dan *B. calyciflorus* dari negara sub-tropis pernah dilaporkan oleh Hara *et al.* (1984) dan Bowman *et al.* (1990), namun hal yang sama pada rotifera tropis seperti *B. rotundiformis* belum pernah dilaporkan, sehingga perlu dieksplorasi untuk kemungkinan dieksploitasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kandungan senyawa bioaktif antibakteri pada spesies *B. rotundiformis*. Diharapkan penelitian ini dapat menjadi langkah awal dalam mengungkapkan keberadaan senyawa-senyawa bioaktif rotifera dari Perairan Sulawesi Utara yang akan membawa terobosan dalam penemuan senyawa-senyawa bioaktif unggulan khas tropis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Bioteknologi Kelautan dan laboratorium Kimia Bahan Hayati Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado. Pengambilan sampel plankton dilakukan dengan cara menarik jaring plankton secara horisontal di permukaan perairan. Air contoh yang terkonsentrasi pada botol plankton net dipindahkan dalam botol sampel plankton berlabel, dan ditambah bahan pengawet formalin empat persen (Arinardi, *dkk.* 1977). Selanjutnya sampel plankton dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi dan dihitung kelimpahannya (Bekleyen 2001). Identifikasi jenis plankton dilakukan dengan menggunakan buku identifikasi Newell dan Newell (1963);

Yamaji (1982); Bold dan Wynne (1985); Wallace dan Snell (1991).

Alga mikro yang digunakan sebagai pakan rotifera adalah jenis *Nannochloropsis oculata*. Alga mikro dikultur dalam medium yang bersalinitas 20 ppt dengan komposisi unsur hara seperti yang digunakan oleh Hirata (1975). Untuk mendeteksi kandungan senyawa bioaktif maka dilakukan proses ekstraksi. Pada tahap awal *B. rotundiformis* dikultur pada suhu dan salinitas optimum yakni suhu 28 °C dan salinitas 20 ppt (James and Abu 1990). Kemudian *B. rotundiformis* dikultur pada salinitas 4 ppt, 20 ppt, 40 ppt, 50 ppt, 60 ppt dengan pakan *N. oculata*. Untuk mendapatkan ekstrak kasar, sampel *B. rotundiformis* digerus dengan alat penggerus (lumpang) dan dihomogenasikan dengan metanol 80 % perbandingan 1:2 (satu bagian sampel plankton dan 2 bagian metanol). Homogenat yang ada direndam selama 24 jam, setelah itu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, sehingga diperoleh presipitat 1 dan supernatan 1. Dalam presipitat 1 ditambahkan lagi metanol 1:2 kemudian diinkubasi selama 8 jam, setelah itu disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga diperoleh presipitat 2 dan supernatan 2. Selanjutnya supernatan 1 dan 2 dengan presipitat 1 dan 2 yang diperoleh, dievaporasi dengan menggunakan *rotari vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar rotifera *B. rotundiformis* (Harborne 1987).

Bakteri yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri adalah *Vibrio cholerae*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*, (Ndukwe *et al.* 2005). Isolat bakteri dalam medium miring ditumbuhkan di cawan petri yang berisi medium agar steril dengan cara digores menggunakan jarum ose. Antibiotik perbandingan yang digunakan adalah amoksisilin dan tetrasiklin. Dosis masing-masing antibiotik adalah 0,5 mg/ml. Medium agar dibuat dari nutrien agar (NA) sebanyak 2 gram yang dilarutkan dalam 100 ml aquades lalu dipanaskan sambil diaduk, kemudian disterilkan dengan otoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C. Selanjutnya nutrien agar dituang dalam cawan petri steril secara merata masing-masing ± 15 ml

dan dibiarkan mengeras. Pengujian antibakteri dilakukan untuk menentukan kesanggupan membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup. Metode pengujian antibakteri yang digunakan adalah metode agar kertas cakram (*paper disc method*) berdasarkan Jorgensen *et al.* 1999 dan Waksman 1974 dalam Wangidjaja 2002. Medium agar yang telah disiapkan diolesi bakteri uji dengan menggunakan kapas steril. Setelah itu kertas cakram yang terbuat dari kertas saring Whatman steril berdiameter 6 mm diletakkan diatas medium agar yang telah diolesi bakteri uji. Selanjutnya ekstrak kasar *B. rotundiformis* diteteskan ke kertas cakram yang telah disiapkan, juga diteteskan antibiotik perbandingan dan metanol sebagai kontrol, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi 24 jam, diukur zona bening yang terbentuk yaitu berupa daerah bening sekeliling kertas cakram. Antibiotik yang dicoba sebagai perbandingan adalah tetrasiklin dan amoksisilin. Untuk menguji aktivitas antibakteri pada *B. rotundiformis* maka dilakukan pengamatan terhadap pembentukan zona bening yang dicoba pada tiga jenis bakteri. Besarnya diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing ekstrak kasar *B. rotundiformis* dibandingkan dengan yang dibentuk oleh antibiotik dan metanol. Makin besar diameter zona bening atau zona hambat dari ekstrak berarti makin besar daya antibakterinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengujian aktivitas antibakteri dari *B. rotundiformis* yang dikultur pada salinitas 4 ppt, 20 ppt, 40 ppt, 50 ppt, 60 ppt dengan pakan *N. oculata* terhadap tiga bakteri uji *V. cholerae*, *B. subtilis*, dan *E. coli* terlihat adanya pembentukan zona bening. Tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan aktivitas dari masing-masing ekstrak kasar terhadap masing-masing bakteri uji serta antibiotik perbandingan dan metanol sebagai kontrol. Antibiotik perbandingan yang digunakan adalah amoksisilin dan tetrasiklin.

Tabel 1. Diameter zona bening (mm) *B. rotundiformis* yang diberi pakan *N. oculata* terhadap tiga jenis bakteri pada salinitas yang berbeda

Salinitas (ppt)	Diameter zona bening (mm)							
	<i>V. cholera</i>			<i>B. subtilis</i>		<i>E. coli</i>		
			n		n		n	
4	4,33	±	2,30	3	0	3	2,50 ± 0	3
20	2,25	±	0,35	3	2,50 ± 0	3	2,76 ± 2,19	3
40	3,75	±	0,35	3	3,50 ± 0,50	3	4,66 ± 0,57	3
50	3,25	±	1,06	3	4,50 ± 1,41	3	2,60 ± 1,04	3
60	3,00	±	0	3	4,25 ± 1,77	3	1,60 ± 1,15	3

Keterangan : Nilai rata-rata ± standar deviasi

Amoksisilin digunakan pada bakteri uji *B. subtilis* karena amoksisilin digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif dan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococci*, *Staphilococcus* non penicilin dan *Bacillus*. Tetrasiklin pada bakteri *V. cholerae* karena tetrasiklin digunakan untuk infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti *V. cholerae*, *Mucoplasma* dan *E. coli* (Schunack dkk. 1990; Winotopradjoko 2000).

Aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar senyawa *B. rotundiformis* yang diberi pakan *N. oculata* terdeteksi menghambat aktivitas ketiga jenis bakteri uji, tetapi tidak semua tingkatan salinitas, jadi terdapat perbedaan diameter zona bening pada ketiga jenis bakteri uji. Zona bening paling besar terbentuk pada bakteri *E. coli* salinitas 40 ppt yaitu 4,66 mm, sedangkan bakteri uji yang tidak terbentuk zona bening adalah bakteri uji *B. subtilis* salinitas 4 ppt.

Respons bakteri uji terhadap ekstrak kasar *B. rotundiformis* berbeda menurut salinitas. Salinitas 40 ppt paling potensial memicu *B. rotundiformis* memproduksi senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri, diduga pada salinitas ini terjadi rangsangan miksis yang mampu merubah pola reproduksi. Rotifera dapat merubah pola reproduksi dari aseksual menjadi seksual diawali dengan adanya stimulus dari luar. Fenomena biologi ini mengindikasikan adanya metabolisme sekunder oleh rotifera yang diyakini merupakan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif dari rotifera sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya, jika kondisi lingkungan berubah atau terjadi rangsangan miksis, maka rotifera mengalami perubahan pola reproduksi.

Karena menurut Hagiwara dan Hirayama (1993), faktor yang dapat menyebabkan terjadinya rangsangan miksis adalah salinitas dan jenis pakan. Jadi salinitas 40 ppt yang menunjukkan aktivitas antibakteri yang besar jika dibandingkan dengan salinitas lain. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa salinitas rendah tidak selalu memicu *B. rotundiformis* memproduksi senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Respons jenis bakteri terhadap senyawa aktif yang dihasilkan terlihat berbeda menurut jenis bakteri. Diameter zona bening yang terbentuk pada ekstrak *B. rotundiformis* yang dikultur dengan alga mikro *N. oculata*, menunjukkan bakteri *E. coli* yang memiliki zona bening paling besar kemudian bakteri *B. subtilis* dan *V. cholerae*.

Pada bakteri uji *V. cholerae*, zona bening yang terbesar terdapat pada ekstrak hasil kultur salinitas 4 ppt yaitu 4,33 mm, kemudian diikuti oleh salinitas 40 ppt (3,75 mm), 50 ppt (3,25 mm), 60 ppt (3 mm), dan yang terkecil adalah 20 ppt (2,25 mm). Perbedaan besarnya zona bening pada salinitas 4 ppt, 40 ppt, 50 ppt, dan 60 ppt tidak menyolok, tetapi pada salinitas 20 ppt zona bening yang dihasilkan adalah yang terkecil. Aktivitas ekstrak kasar *B. rotundiformis* hasil kultur pada salinitas 4 ppt, 20 ppt, 40 ppt, 50 ppt dan 60 ppt semua ampuh terhadap bakteri uji *V. cholerae*. Hal ini menandakan bahwa substansi antibakteri yang terkandung pada semua ekstrak kasar *B. rotundiformis* mampu menghambat mikroorganisme (Lay 1994).

Ekstrak kasar *B. rotundiformis* yang diuji pada bakteri *B. subtilis* tidak semua menghasilkan zona bening seperti pada

bakteri *V. cholerae*. Pada bakteri *B. subtilis*, diameter zona bening terbesar terdapat pada salinitas 50 ppt yaitu 4,50 mm, selanjutnya diikuti oleh salinitas 60 ppt (4,25 mm), salinitas 40 ppt (3,50 mm) dan salinitas 20 ppt (2,50 mm), sedangkan pada salinitas 4 ppt tidak terdeteksi pembentukan zona bening. Aktivitas ekstrak kasar dari *B. rotundiformis* yang dikultur pada salinitas 4 ppt, 20 ppt, 40 ppt, 50 ppt dan 60 ppt tidak semua ampuh terhadap bakteri uji *B. subtilis*.

Hasil pengujian pada ekstrak kasar *B. rotundiformis* dari hasil kultur lima tingkatan salinitas yang diuji pada bakteri *E. coli* menunjukkan diameter zona bening terbesar yaitu pada salinitas 40 ppt dengan diameter 4,66 mm, kemudian diikuti oleh salinitas 20 ppt (2,76 mm), salinitas 50 ppt (2,60 mm), salinitas 4 ppt (2,50 mm), dan salinitas 60 ppt (1,60 mm). Ekstrak kasar *B. rotundiformis* dengan bakteri *E. coli* terlihat pada semua tingkatan salinitas terbentuk zona bening.

KESIMPULAN

Aktifitas antibakteri yang terdeteksi dipengaruhi oleh salinitas yang berbeda. Salinitas 40 ppt adalah yang paling potensial memicu *B. rotundiformis* memproduksi senyawa antibakteri dibandingkan dengan salinitas yang lebih rendah dan lebih tinggi.

Penelitian lanjutan yang diperlukan adalah penelitian aktifitas antibakteri dari *B. rotundiformis* dengan menggunakan jenis bakteri dan pakan lain, serta penelitian untuk pemurnian dan karakterisasi fisika dan kimia senyawa yang diekstrak dari rotifera *B. rotundiformis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arinardi OH. 1997. Status Pengetahuan Plankton di Indonesia. Oseanologi dan Limnologi di Indonesia 30:63-95.
- Bekleyen A. 2001. A Taxonomical Study on The Rotifera Fauna of Devegeçidi Dam Lake (Diyarbakır-TURKEY). Turk. J. Zool. 25:251-255.
- Bold HC, Wynne MJ. 1985. Introduction to The Algae. New Jersey : Prentice-Hall. Inc.
- Bowman BP, Snell TW, Cochrane BJ. 1990. Isolation and Purification of Glutathione S-transferase From *Brachionus plicatilis* and *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). Physiol 95B(3):619-624.
- Hara KH, Arano, Ishihara T. 1984. Purification of Alkaline Proteases of The Rotifer *Brachionus plicatilis*. Bull.Jap.Soc.Sci.Fish 50(9):1605-1609.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Hirata H. 1975. Preliminary Report on The Photoperiodic Acclimation for Growth of Chlorella Cells in Synchronized Culture. Japan : Kagoshima University.
- James CM, and T. Abu Rezeq. 1990. Efficiency of rotifer chemostats in relation to salinity regimes for producing rotifers for aquaculture. J. Aqua. Trop. 5: 103-116.
- Lay B. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta : PT Raja Grafindo Persada.
- Ndukwe KC, Okeke IN, Iamikanra A, Adesina SK, & Aboderin O. 2005. Antibacterial activity of aqueous extracts of selected chewing sticks. J. Contemp. Dent. Pract 3(60) : 86 – 94.
- Newell GE, Newell RC. 1963. Marine Plankton: A Practical Guide. London : Hutchinson Educational.
- Schunack W, Mayer K, Haake M. 1990. Senyawa Obat, Buku Pelajaran Kimia Farmasi Edisi ke-2. Jogjakarta : Gaja Mada University Press.
- Wallace RL, Snell TW. 1991. Rotifera, Ecology and Classification of North American freshwater Invertebrates. California: Academic Press. Inc.
- Wangidjaja RG. 2002. Ekstrak Bunga dan Getah Semboja Sebagai Antibakteri dan Bahan Aktif untuk Pergeseran Gigi Seri Kelinci. [Disertasi]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Widjhati R, Supriyono A, Subintoro. 2004. Pengembangan Senyawa Bioaktif dari Biota Laut. Jakarta : Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika (Pusat P2TFM) BPPT.
- Winotopradjoko M. 2000. ISO Indonesia (Informasi Spesialite Obat Indonesia). Jakarta : PT. Anem Kosong Anem (AKA).
- Yamaji I. 1982. Illustrations of The Marine Plankton of Japan. Osaka : Hoikusha publishing Co.Ltd.