

The Effectiveness of *Cuscuta* sp. Crude Extract as an Antibacterial of *Streptococcus agalactiae* in Tilapia Fry *Oreochromis niloticus*

Hilma Putri Fidyandini^{1*}, Agus Setyawan¹, Huriyatul Fitriyah Noor¹, & Doni Bilga Komara Sakti¹

¹Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia;

Article History

Received : April 28th, 2024

Revised : May 01th, 2024

Accepted : June 20th, 2024

*Corresponding Author: **Hilma Putri Fidyandini**, Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia;
Email: hilma.putri@fp.unila.ac.id

Abstract: Tilapia (*Oreochromis niloticus*) is a leading freshwater fishery commodity in Indonesia. However, aquaculture has an obstacle, namely the lack of healthy fish seeds due to Streptococcus disease caused by the bacteria *Streptococcus agalactiae*. One natural ingredient that is known to have antibacterial properties is dodder (*Cuscuta* sp.). At the Fisheries Cultivation Laboratory at the University of Lampung, the aim of the research was to determine the efficacy of dodder extract in controlling bacterial infections caused by *S. agalactiae* in tilapia fry. CE was attempted on an in vitro scale against the microorganism *S. agalactiae* using a circle dispersion strategy. Then, CE on the dodder was tried for Least Inhibitory Focus (MIC) with a convergence of 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm and 700 ppm. Poisoning test on tilapia seeds with focus referring to the MIC test. The research results revealed that the yield of tali putri extract was 1146 percent. Steroids, flavonoids, alkaloids, saponins and tannins are the components of the active compound content of dodder extract in phytochemical tests. The results of the separate GC-MS dodder test produced the compound 9-octadecenoate with a maintenance area of 10.38%. Dodder removal can withstand *S. agalactiae* from a concentration of 100 ppm with an inhibition zone of 6.64 mm to thickness without weakening with an inhibition zone of 7.50 mm. The MIC test results show that 100 ppm is the optimal concentration for wound healing. The results of the damage test (LC₅₀) at a concentration of 100 ppm showed that the death rate of tilapia fry was the smallest compared to other fixations. It is possible that CE dodder can be made as an antibacterial against *S. agalactiae*.

Keywords: Antibacterial test, *Cuscuta* sp., tilapia, *Streptococcus agalactiae*, minimum inhibitory concentration test.

Pendahuluan

Ikan nila salah satu komoditas budidaya hidroponik air tawar utama di Indonesia. Budidaya ikan nila menguntungkan secara ekonomi dan membantu masyarakat memenuhi kebutuhan nutrisinya. Pertumbuhan ikan nila yang lambat, kualitas air yang buruk, kenaikan harga pakan, serta hama dan penyakit merupakan kendala dalam kegiatan budidaya. Wabah penyakit merupakan salah satu hambatan budidaya yang paling sering terjadi dalam kegiatan budidaya. Streptococcosis yang disebabkan bakteri *Streptococcus agalactiae* dan

menyerang ikan nila merupakan salah satu penyakitnya.

Mikroba *Streptococcus agalactiae* diketahui menginfeksi ikan nila yang dibudidayakan di Jawa Barat, Sumatera Selatan, Jawa Tengah, Kalimantan, dan negara lain seperti Tiongkok, Thailand, Malaysia, dan negara Asia lainnya (Amrullah *et al.*, 2018). Efek klinis pada ikan yang terkontaminasi Streptococcosis adalah exophthalmia (mata bengkak), perut membesar, bintik-bintik merah, bentuk tubuh pingsan dan berenang tidak menentu (Gardenia *et al.*, 2011), kehilangan keseimbangan saat berenang, dan keadaan luar

biasa yang membuat ikan mengalami kehilangan cairan dalam air. Selain itu, orang tubuh dan sistem pencernaan tidak berfungsi (Dwinanti *et al.*, 2014).

Bahan kimia dan antibiotik digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit. Namun penggunaan bahan kimia dan antibiotik memberikan dampak negatif terhadap konsumen serta residu pada ikan dan resistensi terhadap bakteri. Penggunaan bahan alami menjadi alternatif karena aman untuk konsumen, mudah didapat di alam, dan tidak meninggalkan residu pada ikan. Tali putri (*Cuscuta* sp.), salah satu bahan alami yang mengandung senyawa aktif antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin, diduga dapat digunakan untuk mengobati penyakit streptokokus. Tanaman tali putri salah satu jenis gulma yang berpenampilan seperti benang dan sifat memutar yang sangat berbahaya bagi tanaman lain. Sesuai Noorhamdani *et al.*, (2010), tali putri mengandung senyawa aktif seperti flavonoid.

Flavonoid tanaman tali putri mempunyai efek antibakteri, menghambat aktivitas bakteri dengan mencegah metabolisme energi dan fungsi membran sitoplasma. Penelitian Bais *et al.*, (2014) menemukan bahwa senyawa alkaloid dapat mencegah pertumbuhan bakteri, hal ini dibuktikan. Namun sejauh ini belum ada kajian mengenai kelayakan ekstrak tali putri untuk mengobati penyakit *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila, sehingga penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk membedah kelayakan ekstraksi tali putri sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus agalactiae* dalam budidaya ikan nila.

Bahan dan Metode

Alat dan bahan

Alat penelitian yaitu blender, waterbath, erlenmayer, kertas saring, tabung reaksi, cawan petri, hot plate, autoklaf, incubator, mikropipet, jangka sorong, spektrofotometer, shaker, spuit, dan akuarium. Bahan yang digunakan meliputi bakteri *S. agalactiae*, tali putri, ikan nila, pakan ikan, antibiotik, methanol, media TSA, dan media TSB.

Pembuatan ekstrak tali putri

Simplisia tali putri dilarutkan dalam etanol sebagai pelarut pada proses ekstraksi. Simplisia

tali putri dicampur dengan etnaol dengan perbandingan 1:13,3 dan dimaserasi selama 48 jam (Kalita *et al.*, 2012). Kemudian hasil maserasi diayak menggunakan kertas saring dan didifusikan menggunakan evaporator vakum selama 40 menit dengan kecepatan 60 rpm pada suhu 40°C, kemudian pada saat itulah ditentukan rendemen konsentrasinya.

Uji fitokimia

Uji kualitatif fitokimia dilakukan dengan menggunakan 6 macam pengujian (Tasmin *et al.*, 2014), yaitu uji steroid, uji saponin, uji tanin, uji terpenoid, uji flavonoid, uji alkaloid.

Uji Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS)

Pengujian dilakukan di Pusat Standardisasi Instrumen Pengelolaan Hutan Berkelanjutan, Kota Bogor, Jawa Barat. Oven dengan kondisi suhu (50 – 29°C), *interface* (290°C), kontrol mode (*split*), tekanan (20.8 psi), *total flow* (23.7 ml/min), *split ratio* : (200 : 1), *split flow* (199 ml/min), gas (He), dan *detector* (MSD).

Uji zona hambat

Uji zona hambatan untuk mengetahui kemampuan tali putri dalam menekan perkembangan mikroorganisme *S. agalactiae* dengan melihat zona yang tepat di sekitar lingkaran kertas. Pertama bersihkan alat dan bahan, basahi kertas saring dengan ekstrak tali putri selama 24 jam, mikroorganisme diambil menggunakan mikropipet sebanyak 100 µl dengan kepadatan 10⁵ CFU/ml, kemudian dimasukkan dalam cawan petri yang mengandung TSA beku secara aseptik dan dihomogenisasi. Kertas saring steril selebar 6 mm yang telah direndam konsentrat tali putri dengan konsentrasi berbeda ditempel ke media dalam cawan petri, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27°C. Kaliper digunakan untuk mengukur zona hambat pada langkah terakhir, sehingga menunjukkan zona bening pada setiap kertas cakram.

Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Nilai uji MIC dilakukan dengan menyiapkan 6 tabung reaksi dan diisi masing-masing media trypticase soy broth (TSB). Perlakuan yang dilakukan yaitu:

T1 : 5 ml media TSB ditambahkan *S. agalactiae* kepadatan 10^5 cfu/ml dan 1 ml ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm.

T2 : 5 ml media TSB ditambahkan *S. agalactiae* kepadatan 10^5 cfu/ml dan 1 ml ekstrak dengan konsentrasi 300 ppm.

T3 : 5 ml media TSB ditambahkan *S. agalactiae* kepadatan 10^5 cfu/ml dan 1 ml ekstrak dengan konsentrasi 500 ppm.

T4 : 5 ml media TSB ditambahkan *S. agalactiae* kepadatan 10^5 cfu/ml dan 1 ml ekstrak dengan konsentrasi 700 ppm.

T5 : 5 ml media TSB ditambahkan *S. agalactiae* kepadatan 10^5 cfu/ml dan 1 ml larutan antibiotik.

T6 : 5 ml media TSB ditambahkan *S. agalactiae* kepadatan 10^5 cfu/ml dan larutan akuades.

Selanjutnya, diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam menggunakan shaker dan dihitung absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm.

Uji toksisitas

Metode LC_{50} dapat digunakan untuk melakukan uji toksikologi. Uji LC_{50} selama 24 jam dipandang mampu untuk mengetahui pada fiksasi apa konsentrasi tali putri dapat menyebabkan kematian ikan nila setengahnya dalam waktu tertentu. Dengan menggunakan konsentrasi yang telah ditetapkan sebelumnya 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm, dan 700 ppm dan akuades sebagai perlakuan kontrol, uji toksisitas 24 jam dilakukan. Langkah selanjutnya adalah penyuntikan ikan nila berukuran 7-8 cm dengan konsentrasi 0,1 ml/ekor.

Hasil dan Pembahasan

Tumbuhan tali putri (*Cuscuta* sp.) yang diambil dari salah satu daerah Provinsi Lampung, diuji fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas MIPA, Universitas Lampung. Hasil uji fitokimia di laboratorium tersebut menyatakan bahwa tumbuhan tersebut memiliki kandungan seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji kualitatif fitokimia tumbuhan tali putri (*Cuscuta* sp.)

No.	Jenis Uji	Hasil Uji	Keterangan	
1	Saponin	+	Positif	Kuning, busa
2	Steroid	+	Positif	Biru, busa
3	Terpenoid	-	Negatif	Merah tidak ada busa
4	Tanin	+	Positif	Hitam, busa
5	Alkaloid	+	Positif	Putih kecoklatan, busa
6	Flavonoid	+	Positif	Merah, busa

Hasil analisis senyawa fitokimia diperoleh lima senyawa fitokimia yang terkandung pada ekstrak tali putri, yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, tanin dan saponin. Saponin mempunyai kemampuan sebagai pembersih dan bebas kuman yang mampu mencegah berkembangnya mikroorganisme (Cannell,

1998). Steroid memiliki kemampuan membentuk struktur lapisan, membentuk bahan kimia untuk pertumbuhan dan penggandaan dan sebagai antimikroba (Robinson, 1995). Terpenoid memiliki kemampuan antimikroba (Saxena dan Kalra, 2011). Tanin mempunyai sifat antioksidan dan antibakteri (Desmiaty *et al.*, 2008).

Tabel 2. Senyawa- senyawa hasil identifikasi GC-MS dari ekstrak tali putri

Peak#	R.Time	Area	Area%	Name
#9	17.849	492472	2.05	Mebutamate
#12	18.642	4525373	1.88	2H-Pyran-2-one, 6-heptyltetrahydro-(CAS) .DELTA.-LAUROLACTONE
#20	21.295	24972598	10.38	9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) Oleic acid
#21	21.939	10350331	4.3	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate

Alkaloid bertanggung jawab untuk menstimulasi sistem saraf, mengubah tekanan

darah, dan melawan infeksi mikroba (Carey, 2006). Flavonoid mempunyai kemampuan

antibakteri (Noorhamdani, 2010). Kromatografi gas dapat membaca senyawa dengan konsentrasi paling rendah sehingga memungkinkan dilakukannya identifikasi metabolit sekunder tanaman melalui kromatogram dan spektrum massa (Al-Rubaye *et al.*, 2017). Hasil analisis menunjukkan bahwa 47 puncak dan senyawa dengan *similarity indeks* (SI) yang bervariasi berhasil diekstraksi dari pelarut etanol (Tabel 2).

Komponen senyawa terbanyak pada tumbuhan tali putri dalam ekstrak etanol terletak pada peak 20 dengan nilai *retention area* adalah 10,38% dengan senyawa yang terdapat pada peak 20 yaitu 9-octadecenoic acid. Senyawa ini berperan sebagai inhibitor metabolit *Escherichia coli*, metabolit tanaman, metabolit *Daphnia galeata*, pelarut, anti-oksidan dan metabolit tikus. Senyawa ini juga berperan sebagai antiiskemik mencegah kekurangan aliran darah ke jaringan atau organ tubuh akibat gangguan pembuluh darah.

Metode difusi cakram digunakan untuk pengujian antibakteri. Kemudian, mentiriskan paper disk yang sudah direndam ekstrak selama 24 jam dan meletakan di atas media yang berisi bakteri dengan sedikit ditekan agar paper disk menempel pada per-mukaan media. Selanjutnya

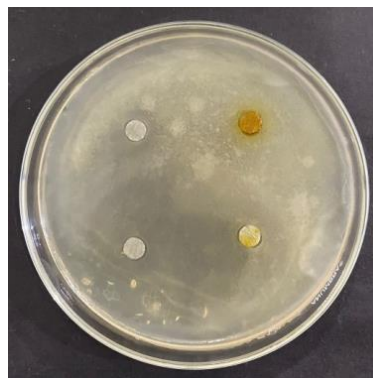
Tabel 3. Skrining uji antibakteri ETP menggunakan paper disk 6 mm

No.	Bakteri	Diameter zona bening (mm)			
		Antibiotik	Tanpa Pengenceran	Ekstrak 100 ppm	Akuades
1	<i>S. agalactiae</i>	7,80	7,50	6,64	6,64

Interpretasi zona hambat dengan kisaran 6-10 mm dikategorikan pada tingkat sedang dan pada konsentrasi 11-20 mm dikategorikan pada tingkat kuat (Surjowardojo, 2015). Hal ini membuktikan bahwa, penggunaan ekstrak tali putri memiliki hasil yang nyata dalam meminimalisir tumbuhnya bakteri. Sifat antibakteri suatu senyawa dikatakan mempunyai daya kerja yang tinggi terhadap organisme mikroskopis bila nilai fiksasi penghambatan bakteri (MIC) terendahnya kecil, namun mempunyai lebar hambat yang sangat besar (Irianto, 2007).

Hasil nilai terendah pada ekstrak tali putri terhadap menghambat pertumbuhan bakteri *S. agalactiae* yaitu pada konsentrasi 100 ppm dengan nilai kejernihan 1,412. Ekstrak tali putri memiliki potensi untuk digunakan sebagai antibakteri pada saat dilakukan uji zona hambat.

diinkubasi pada suhu 27°C selama 24 – 48 jam. Aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening di sekeliling *paper disk* (Gambar 1).



Gambar 1. Uji zona hambat ekstrak tali putri terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Hasil positif zona hambat dari ekstrak tali putri ditandai dengan terbentuknya zona bening. Pada uji zona hambat media dibagi menjadi tiga bagian, yaitu (a) merupakan larutan antibiotik, bagian (b) merupakan larutan ekstrak tali putri tanpa pengenceran, dan bagian (c) merupakan ekstrak tali putri dengan pengenceran 100 ppm, dan bagian (d) merupakan larutan akuades.

Hasil uji toksisitas dengan menghitung nilai LC_{50} dari ekstrak tali putri dengan menggunakan analisis probit untuk mengetahui konsentrasi ekstrak bersifat toksik.

Tabel 4. Hasil uji MIC ekstrak tali putri terhadap bakteri *S. agalactiae*

Bakteri	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (n=1)
<i>S. agalactiae</i>	100	1,412
	300	1,467
	500	1,464
	700	1,473
	Antibiotik	1,254
Media TSB murni		0,059

Uji toksisitas LC_{50} ekstrak tali putri dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang

menyebabkan kematian 50% selama 24 jam pada ikan nila yang diujikan sebanyak 7 ekor setiap perlakuannya. Konsentrasi yang digunakan

berdasarkan hasil uji MIC yang didapatkan, yaitu 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm, dan 700 ppm.

Tabel 5. Hasil uji toksisitas ekstrak tali putri terhadap ikan nila

No.	Konsentrasi (ppm)	Waktu (Jam)					Jumlah mortalitas (ekor)
		1	6	12	18	24	
1	100	0	0	0	0	0	0
2	300	1	1	0	1	2	5
3	500	1	1	2	0	2	6
4	700	2	2	0	0	2	6
5	Akuades	0	0	0	0	0	0

Tabel 6. Hasil uji toksisitas LC₅₀ ekstrak tali putri terhadap ikan nila

Konsentrasi uji	Log Konsentrasi	Jumlah Ikan uji (ekor)	Jumlah ikan yang mati	Jumlah ikan yang hidup	Kematian (%)	Nilai LC ₅₀
100	2	7	0	7	0	119,82 ppm
300	2,477121255	7	5	2	71%	
500	2,698970004	7	6	1	86%	
700	2,84509804	7	6	1	86%	

Berdasarkan kategori tersebut, ekstrak tali putri termasuk kategori toksik dengan nilai konsentrasi sebesar 119,82 ppm. Dari hasil uji GC-MS menunjukkan kandungan senyawa tumbuhan tali putri pada *peak* 9 adalah mebutamate dengan nilai *retention area* sebesar 2,05. Senyawa ini masuk ke dalam kategori obat ansiolitik dan sedatif dengan cara menghambat sistem saraf pusat serta efek lain seperti keracunan serta memiliki fungsi sebagai pestisida di beberapa negara sehingga berbahaya jika digunakan langsung terhadap hewan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diinjeksikan ke ikan uji maka semakin tinggi tingkat mortalitasnya.

Kesimpulan

Steroid, flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang berpotensi sebagai antibakteri merupakan senyawa aktif yang ditemukan pada ekstrak Tali Putri pada uji fitokimia. Pada konsentrasi 100 ppm dan 7,50 pada ekstrak tanpa pengenceran, ETP mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. agalactiae*, membentuk zona bening sebesar 6,64 mm. Pada uji MIC juga ditunjukkan bahwa pada konsentrasu 25 ppm mampu menghambat perkembangan *S. agalactiae*. Uji toksisitas menunjukkan 119,82 ppm, yang berbahaya bagi hewan uji.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih peneliti ucapkan kepada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah membantu peneliti dalam menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

- Al-Rubaye, A. F., I., H., Hameed, & Moh. , J., Kadhim. (2017). A Review: Uses of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique for analysis of bioactive natural compounds of some plants. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 9(1): 81-85. 10.25258/ijtpr.v9i01.9042
- Amrullah, Jaya, A., A, Baga, I., & Wahidah. (2018). *Streptococcus agalactiae* whole cell bacteria toxin protein in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society*. 11(12): 460-468.
- Bais, N., Arun, K., Vinod, K., Mishra, Rajendra, S., & Prachi, K. (2014). Compararative study on antibacterial activity of ethyl acetate extract of *Cuscuta reflexa* grown on *Cassia fistula* and *Ficus benghalensis*.

- International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(1): 137-141. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(1\)](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(1))
- Cannell, R., J., P. (1998). *Natural Products Isolation Methods in Biotechnology*, Vol. 4, Ed. 2. Humana Press : Totowa.
- Carey, F. (2006). *Dasar-Dasar Biokimia*, Vol. 1, Ed. 1. Universitas Indonesia Press : Jakarta
- Desmiaty, Y., Ratih, H., Dewi, M., A., & Agustin, R. (2008). Penentuan jumlah tanin total pada daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) dan daun sambang darah (*Excoecaria bicolor Hassk.*) secara kolorimetri dengan pereaksi biru prusia. *Jurnal MIPA Unsrat*. 1(1): 5-10.
- DJPB KKP. (2021). *Laporan Kinerja Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Tahun 2020* [Laporan Penelitian]. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Jakarta.
- Dwinanti, S., Sukenda, H., Y., & Lusiastuti, A., M. (2014). Toksisitas dan imunogenitas produk ekstraseluler *Streptococcus agalactiae* tipe non-hemolitik pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. 2(1): 105-116.
<https://doi.org/10.36706/jari.v2i1.2058>
- Gardenia, L., Isti., K., & Yani, A. (2011). Kasus infeksi alami: diagnosa *Streptococcus agalactiae* dari jaringan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan polymerase chain reaction. *Jurnal Perikanan*. 13(1): 22-26.
<https://doi.org/10.22146/jfs.3058>
- Irianto, K. (2007). *Menguak Dunia Mikroorganisme*, Vol. 1, Ed. 1. CV. Yrama Widya: Bandung.
- Kalita, D., Kumar, G., Karthik, L., & Rao, K. V. B. (2012). Ethnomedicinal antibacterial and antifungal potentiality of *Centella asiatica*, *Nereium indicum* and *Cuscuta reflexa*. *International Journal of Phytomedicine*. 4(3): 380-385.
- Noorhamdani, Herman, & Zulfah, D. (2010). *Uji ekstrak Cuscuta sp. sebagai antibakteri terhadap Staphylococcus aureus secara in vitro*. [skripsi]. Malang (ID): Universitas Brawijaya.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Vol.4, Ed. 4. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB: Bandung.
- Saxena, G., & Kalra, S., S. (2011). Antimicrobial activity pattern of certain terpenoids. *Internasional Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2(1): 87-91.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T., E., & Sirait, G., R., B. 2015. Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. penyebab mastitis pada sapi perah. *Jurnal Ternak Tropika*. 16(2): 40-48.
<https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2015.016.02.6>