

Determinasi Bakteri Simbion Luminesensi Cumi *Loligo edulis* Serta Analisis Potensinya Sebagai Anti Bakteri

Delianis Pringgenies*, Dinny Anjang Sari, Ria Azizah T.N., Ervia Yudiati, Endang Sri Susilo dan Alfi Satriadi

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH. Kampus UNDIP Tembalang, Semarang 50275
Email: pringgenies@yahoo.com

Abstract

The aim of this research is to determine luminous bacteria that symbiont with the light organ of the squid *Loligo edulis* and also to find out the potency of symbiont bacteria in light organ of the squid *L. edulis*. The squid *L. edulis* were collected from Teluk Awur Waters, Jepara. Stages of this research began with the isolation of bacteria, bacteria screening for anti bacteria, antibacterial activity test and and determination of bacterial species of the isolate. The result of determination showed that luminous bacteria which symbiont with the light organ of the squid *L. edulis* is come from species of *Photobacterium phosphoreum*. The result showed that luminous bacteria which symbiont with the light organ of the squid *L. edulis* have potency as antibacterial compound. Bacteria *P. phosphoreum* which symbiont in light organ of the squid *L. edulis* could inhibit the growth of *Vibrio harveyi* (diameter of resistance zone had range from 8,30-8,87 mm), *Escherichia coli* (diameter of resistance zone had range from 7,84-8,45 mm), *Staphylococcus aureus* (diameter of resistance zone had range from 8,39-9,09 mm) and *Bacillus sp* (diameter of resistance zone had range from 8,27-9,01).

Keyword : symbiosis, *L. edulis*, *P. phosphoreum*, antibacterial

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeterminasi bakteri simbion yang bercahaya yang pada organ ringan dan mengetahui potensi bakteri simbion pada organ ringan dari cumi cumi *Loligo edulis*. Cumi *L. edulis* dikoleksi dari perairan Teluk Awur, Jepara. Tahapan penelitian meliputi: isolasi bakteri, skrining bakteri, uji aktivitas antibakteri dan dan identifikasi spesies bakteri isolat. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri luminesensi yang bersimbiosis dengan organ cahaya cumi *L. edulis* adalah bakteri jenis *Photobacterium phosphoreum*. Bakteri luminesensi yang menempel pada organ cahaya cumi *L. edulis* memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Bakteri *P. phosphoreum* yang tergabung edulis dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio harveyi* (diameter zona resistansi berkisar antara 8,30-8,87 mm), *Escherichia coli* (diameter zona resistansi berkisar antara 7,84-8,45 mm), *Staphylococcus aureus* (diameter zona resistansi berkisar antara 8,39-9,09 mm) dan *Bacillus sp* (diameter zona resistansi berkisar antara 8,27-9,01).

Keyword : simbiosis, *Loligo edulis*, *Photobacterium phosphoreum*, antibakteria

PENDAHULUAN

Cephalopoda adalah biota laut yang memiliki tangan dibagian kepalanya dan masyarakat mengenal hewan ini dengan: cumi, sotong dan gurita. Biota laut cumi ada yang memiliki organ cahaya sedangkan Sotong dan gurita tidak

(Pringgenies et al., 2001). Organ cahaya pada cumi *Loligo duvaucelii* berasal dari bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahayanya (Pringgenies dan Jørgensen, 1994). Organ cahaya cumi terdapat menempel pada kantong tintanya (Rudiana dan Pringgenies, 2004). Hasil penelitian Pringgenies dan Sejati

(2004) memberikan informasi bahwa bakteri yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. duvauceli* adalah bakteri luminesensi dari jenis *Photobacterium phosphoreum*. Bakteri luminesensi ini pada organ cahaya cumi-cumi tidak diturunkan langsung dari induknya tetapi melalui lingkungan. Pada masa *juvenile*, cumi-cumi mengeluarkan senyawa mukoid yang mempermudah bakteri mengenali pori-pori tubuh inang. Bakteri memasuki pori-pori inang dan masuk ke bagian dalam dengan bantuan flagella (Pringgenies, 2012). Ketika bakteri mulai menempel, inang mengeluarkan senyawa racun peroksida (H_2O_2), tetapi bakteri dengan enzim katalase mampu mengkatalisis senyawa peroksida menjadi senyawa lain yang tidak berbahaya dan melepaskannya ke lingkungan. Akibat masuknya bakteri, beberapa sel inang mengalami kematian sehingga mikroorganisme dan inang akan menyatu (Utomo, 2005).

Berdasarkan gambaran keadaan tersebut, maka perlu kiranya dilakukan penelitian mengenai determinasi bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. duvauceli* dan *L. edulis* serta aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen penyebab penyakit pada hewan dan manusia. Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan penelitian adalah untuk mengetahui jenis bakteri Determinasi bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. edulis*. Disamping itu, untuk mengetahui potensi bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. edulis*.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri luminesensi yang diisolasi dari organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* sedangkan bakteri uji yang digunakan dalam uji sensitivitas antibakteri adalah *Vibrio harveyi*, *V. alginolyticus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus* sp.

Pelaksanaan Penelitian meliputi: sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, pembuatan

media isolasi bakteri luminesensi yang terdiri dari media Nutrient Agar (NA) dan Nutrient Broth (NB), koleksi sampel cumi-cumi *L. duvauceli* dan *L. edulis*, pengambilan sampel organ cahaya cumi-cumi yang menempel pada kantong tinta, isolasi bakteri luminesensi, determinasi bakteri luminesensi dan uji sensitivitas antibakteri.

Determinasi bakteri luminesensi meliputi pewarnaan Gram dan uji dengan media TCBS. Langkah untuk uji ini adalah dengan menginokulasi bakteri luminesensi yang diisolasi dari organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* pada media TCBS dengan cara gores kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri. Uji dikatakan positif (+) jika bakteri tumbuh pada media TCBS sedangkan hasil uji dikatakan negatif (-) jika tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada media TCBS. Selanjutnya adalah uji oksidase, uji Indol, uji Hugh-Leifson (OF), uji motilitas, uji H_2S , uji Voges-Proskauer. Selanjutnya dilakukan uji sensitivitas isolat bakteri luminesensi terhadap pertumbuhan bakteri patogen.

Isolat bakteri simbiosis cumi *L. edulis* yang memberikan hasil positif terhadap bakteri uji kualitatif selanjutnya dilakukan uji kuantitatif. Metode yang digunakan untuk uji kuantitatif sama dengan metode uji kualitatif. Pembentukan diameter zona hambatan (daerah yang tidak ditumbuhi bakteri di sekeliling kertas cakram) diukur tiap waktu inkubasi 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dengan menggunakan jangka sorong. Semua kegiatan tersebut di atas dilakukan dalam keadaan aseptis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan isolasi yang dikerjakan dengan metode Lay (1994) diperoleh 8 isolat, namun hanya 1 isolat murni yang berpendar. Penentuan isolat bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* didasarkan pada morfologi koloni bakteri luminesensi yang ditumbuhkan pada media Nutrient Agar (NA) di dalam cawan petri serta pengamatan pemancaran cahaya oleh bakteri pada ruang gelap. Selanjutnya dilakukan pemurnian terhadap isolat

bakteri sehingga didapatkan isolat murni bakteri luminesensi. Pengamatan morfologi koloni bakteri luminesensi ini meliputi warna, bentuk, permukaan dan bagian tepi koloni. Hasil isolasi bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* menunjukkan bahwa koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media NA dapat memancarkan cahaya yang berwarna kebiruan jika ditempatkan pada ruangan gelap. Isolat bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. edulis*. Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa isolat L2 bersifat Gram negatif, dapat memancarkan cahaya di ruang gelap, tidak tumbuh pada media uji TCBS, menghasilkan enzim oksidase, tidak dapat membentuk indol, oksidatif terhadap karbohidrat (sukrosa dan laktosa), motil, tidak menghasilkan H₂S pada pertumbuhan dengan SIM medium dan dapat melaksanakan fermentasi 2,3-butanadiol.

Berdasarkan pengamatan morfologi dan uji biokimia bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* maka bakteri tersebut termasuk ke dalam jenis bakteri *Photobacterium phosphoreum*. Uji

sensitivitas isolat bakteri luminesensi terhadap pertumbuhan bakteri patogen menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diisolasi dari organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* bersifat bioaktif atau mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil uji kuantitatif sensitivitas antibakteri isolat *L. edulis* terhadap bakteri uji (*V. harveyi*, *E. coli*, *S. aureus* dan *Bacillus* sp) (Tabel. 1)

Pembentukan diameter zona hambatan yang terbesar diperoleh dari uji sensitivitas antibakteri terhadap *V. harveyi* adalah pada waktu inkubasi 24 jam yaitu sebesar (8,87 ± 0,100) mm untuk isolat *L. edulis*. Diameter zona hambatan yang terbesar yang diperoleh dari uji sensitivitas antibakteri terhadap *E. coli* adalah pada waktu inkubasi 24 jam yaitu sebesar (8,31 ± 0,101) mm untuk isolat *L. edulis*. Pembentukan diameter zona hambatan isolat *L. edulis* selama masa inkubasi 4 x 24 jam mengalami penurunan. Hasil diameter zona hambatan yang terbesar yang diperoleh dari uji sensitivitas antibakteri terhadap *S. aureus* adalah pada waktu inkubasi 48 jam yaitu sebesar (9,00 ± 0,153) mm untuk isolat *L. edulis* sebesar (9,09 ± 0,182) mm pada waktu inkubasi 72 jam. Diameter zona hambatan yang terbesar

Tabel 1. Diameter zona hambatan hasil uji kuantitatif dari isolat L2 terhadap *V. harveyi*, *E. coli*, *S. aureus* dan *Bacillus* sp.

Bakteri pathogen	Waktu Inkubasi (jam)	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rerata (mm)	ISD
		I	II	III		
<i>V. harveyi</i>	24	8,87	8,77	8,97	8,87	0,100
	48	8,83	8,60	8,93	8,79	0,169
	72	8,40	8,13	8,37	8,30	0,148
	96	8,50	8,13	8,77	8,47	0,321
<i>E. coli</i>	24	8,20	8,33	8,40	8,31	0,101
	48	8,63	8,17	7,83	8,21	0,401
	72	8,03	8,03	7,50	7,85	0,306
<i>S. aureus</i>	96	8,03	8,00	7,50	7,84	0,298
	24	9,20	8,83	9,03	9,02	0,185
	48	9,27	8,90	9,03	9,07	0,188
<i>Bacillus</i> sp	72	9,30	8,97	9,00	9,09	0,182
	96	9,17	8,90	8,97	9,01	0,140
	24	9,30	9,03	8,70	9,01	0,300
<i>Bacillus</i> sp	48	9,03	8,90	8,57	8,83	0,237
	72	8,63	8,87	8,23	8,58	0,323
	96	8,10	8,60	8,10	8,27	0,288

Keterangan : ISD = Indeks Standar Deviasi

yang diperoleh dari uji sensitivitas antibakteri terhadap *Bacillus* sp adalah pada waktu inkubasi 24 jam yaitu sebesar $(8,92 \pm 0,068)$ mm untuk isolat *L. edulis*. Pembentukan diameter zona hambatan isolat *L. edulis* terhadap *Bacillus* sp selama masa inkubasi 4 x 24 jam mengalami penurunan.

Pembahasan

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa pancaran cahaya isolat *L. duvauceli* terlihat lebih terang jika dibandingkan dengan pancaran cahaya isolat *L. edulis*. Pancaran cahaya ini dipengaruhi oleh diameter koloni dan jumlah total bakteri luminesensi (Pringgenies dan Sejati, 2004). Isolat bakteri luminesensi yang berhasil didapatkan dari organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* kemudian diidentifikasi berdasarkan karakteristik bakteri luminesensi dari genus *Vibrio* dan *Photobacterium*. Hasil identifikasi isolat bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya cumi-cumi *L. edulis* kemudian dibandingkan dengan karakteristik bakteri genus *Photobacterium* dan karakteristik spesies bakteri luminesensi berdasarkan acuan Baumann *et al.*, (1984). Berdasarkan sifat Gram, bakteri *P. phosphoreum* yang diisolasi dari organ cahaya cumi-cumi dan *L. edulis* tergolong bakteri Gram negatif. Menurut Pelczar dan Chan (1986) bakteri Gram negatif mempunyai struktur dinding sel yang tipis dan berlapis tiga dengan kandungan lipid yang tinggi sekitar 11-22 %, peptidoglikan, protein, fosfolipida dan liposakarida (LPS). Menurut Pringgenies dan Sejati (2004) meskipun *P. phosphoreum* termasuk golongan bakteri Gram negatif tetapi sejauh ini belum ada laporan mengenai patogenitas bakteri ini. Kemungkinan selama proses koevolusinya inang telah mengantisipasi keberadaan LPS bakteri dengan mensekresikan senyawa penetralisir melalui mikrovili-mikrovili dalam lumen.

P. phosphoreum termasuk ke dalam famili Vibrionaceae. Bakteri ini berbentuk batang dengan ukuran 1,8-2,4 μm dan dengan diameter 0,8-1,3 μm dan dapat

tumbuh pada temperatur 4-30 °C. Genus *Photobacterium* mempunyai butiran poly- β -hydroxybutyrate (PHB) yang merupakan salah satu karakteristik khas dari bakteri luminesensi ini (Baumann *et al.*, 1984) dan membedakannya dari 2 genus bakteri luminesensi lain yaitu *Vibrio* dan *Xenorhabdus* (Holt *et al.*, 1993 dalam Sejati *et al.*, 2003). Menurut Brock (1991) bahwa butiran poly- β -hydroxybutyrate (PHB) merupakan sumber energi bagi sel bakteri.

Uji sensitivitas isolat bakteri luminesensi terhadap pertumbuhan bakteri pathogen menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling kertas cakram. Perbedaan kemampuan penghambatan dari isolat bakteri terhadap bakteri pathogen diduga karena adanya perbedaan kemampuan bakteri uji dalam menetralisir metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat bakteri *L. edulis*. Tidak adanya zona hambatan pertumbuhan *V. alginolyticus* diduga karena isolat *L. edulis* yang digunakan tidak menghasilkan antibiotik atau zat penghambat lainnya dalam mengendalikan pertumbuhan *V. alginolyticus* serta kemampuan *V. alginolyticus* sendiri dalam menetralisir zat penghambat tersebut. Luas diameter zona hambatan yang terbentuk pada uji sensitivitas isolat bakteri luminesensi terhadap bakteri patogen berbeda-beda untuk tiap bakteri uji. Menurut Brock dan Madigan (1991) luas diameter zona hambatan di sekeliling kertas cakram dipengaruhi oleh sensitivitas bakteri uji terhadap agen antibakteri, kesesuaian media pertumbuhan mikroorganisme, kondisi pada saat inkubasi, laju difusi dari agen antibiotik di dalam media dan konsentrasi molekul agen antibiotik.

Berdasarkan hasil pengamatan dapat diketahui bahwa waktu inkubasi memberikan pengaruh pada pembentukan diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri uji. Adanya zona hambatan yang terbentuk menandakan bahwa bakteri *P. phosphoreum* menghasilkan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan

bakteri uji. Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia hasil metabolisme yang terkandung di dalam organisme. Metabolit sekunder tidak langsung mempengaruhi kehidupan organisme, tetapi bahan ini tetap sangat berguna untuk mempertahankan kelangsungan hidup organisme dari pengaruh lingkungan alam sekitarnya (Manitto, 1980). Bakteri Gram positif hanya mempunyai satu lapis dinding sel yang tebal sedangkan bakteri Gram negatif mempunyai struktur dinding sel yang berlapis. Bakteri Gram negatif mempunyai membran luar di luar dinding sel selain itu juga mempunyai membran sitoplasma. Diduga hal inilah yang menyebabkan perbedaan besarnya zona hambatan yang terbentuk antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Zat antibakteri akan lebih mudah masuk melewati satu lapis dinding sel pada bakteri Gram positif dibandingkan dengan melewati tiga lapis dinding sel bakteri Gram negatif (Bibiana dan Hastowo, 1992 dalam Susanto et al., 1996).

Sebagian besar dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipida yang tinggi dibandingkan dinding sel bakteri Gram positif (Lay, 1994). Dinding sel berfungsi memberi bentuk tertentu pada sel, untuk memberi perlindungan, memegang peranan dalam pembelahan sel dan untuk mengatur keluar masuknya zat kimia (Dwidjoseputro, 1987). Menurut Wattimena et al., (1994) dalam Susanto (1996) tekanan internal bakteri Gram positif 3-5 kali lebih besar jika dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Setelah pelekatan zat antibakteri oleh reseptor, reaksi transpeptidase akan dihambat dan disintesa peptidoglikan tertahan kemudian dilanjutkan dengan penghentian aktivitas suatu penghambat enzim otolitik dalam dinding sel. Hal inilah yang akan mengaktifkan enzim litik dan mengakibatkan lisis sel. Dikarenakan bakteri Gram positif mempunyai tekanan internal yang lebih besar dibandingkan bakteri Gram negatif maka lisis yang ditimbulkan akan lebih besar. Menurut Lay (1994) berbagai faktor yang

mempengaruhi penghambatan mikroorganisme mencakup kepadatan populasi mikroorganisme, kepekaan terhadap bahan antimikrobal, volume bahan yang disterilkan, lamanya bahan antimikrobal diaplikasikan pada mikroorganisme, konsentrasi bahan antimikrobal, suhu dan kandungan bahan organik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, hasil determinasi bakteri luminesensi yang bersimbiosis pada organ cahaya *L. edulis* adalah jenis bakteri *Photobacterium phosphoreum*. Bakteri luminesensi dari cumi-cumi *L. edulis* berpotensi sebagai antibakteri. Senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri *P. phosphoreum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*V. harveyi* dan *E. coli*) dan bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *Bacillus* sp).

DAFTAR PUSTAKA

- Baumann, P., Furnis, A.L. & Lee, J.V. 1984. Facultatively An Aerobic Negative Rods, in N.R Krieg. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 1. Williams & Wilkins, USA. 964 pp.
- Brock, T.D & Madigan, M.T. 1991. Biology of Microorganism. Prentice Hall, Englewood Cliff, New Jersey. 909 pp.
- Dwidjoseputro, D. 1987. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan, Jakarta, 214 hlm.
- Gupte, S. 1990. Mikrobiologi Dasar. Binarupa Aksara. Jakarta. (diterjemahkan oleh Julius E. Suryawidjaja)
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT Rajagrafindo Persada, Jakarta, 168 hlm.
- Pringgenies, D., Sastrodihardjo, S., Nganro, N.R. & Aryantha, I.N. 2001. Bacterial Symbionts in the Luminous Organ of the Squid, *Loligo duvauceli*, and Cuttlefish, *Sepia* sp. Phuket Marine Biological Center Special Publication. 25(1):145-148.
- Pringgenies, D & J.M Jørgensen.1994. Morphology of the Luminous Organ of

- the Squid *Loligo duvauceli* d'Orbigny, 1839. *Acta Zoologica*. 75(4):305-309.
- Pringgenies, D & Sedjati, S. 2004. Isolasi dan Determinasi Bakteri Luminesensi yang Bersimbiosis pada Cumi-cumi *Loligo duvauceli*. *J. Ilmiah Pengembangan Ilmu-ilmu Kelautan*. 9 (1):26-30.
- Pringgenies, D. 2012. Fenomena Bioluminesensi Cumi-Cumi (*Loligo duvauceli*) Berasal dari Bakteri Simbion. *Jurnal Harpodon Borneo*. 5(1):63-73
- Rudiana, E. & Pringgenies, D. 2004. Morfologi dan Anatomi Cumi-cumi *Loligo duvauceli* yang Memancarkan Cahaya. *J. Ilmiah Pengembangan Ilmu-ilmu Kelautan*. 9(2):96-100.
- Sedjati, S., Pujiastuti, J. & Pringgenies D. 2003. Determinasi Bakteri Luminesensi yang Bersimbiosis pada Inang Sotong *Sepia esculenta* (Bakteri sebagai sumber cahaya). Universitas Diponegoro, Semarang. (Laporan Penelitian). (tidak dipublikasikan). 21 hlm.
- Utomo, Y.W. 2005. *Vibrio fischeri*, Si Pemantau Laut. (<http://pasti.itgo.com/tabloid/edisi23/iptek.htm>) (Tanggal pengambilan 10 Juli 2017).
- Susanto, A.B., O.K. Radjasa dan T. Bachtiar. 1996. Studi Pendahuluan Potensi Ekstrak Kasar Calcareous Algae Genus Halimeda dari Perairan Jepara Sebagai Senyawa Antibakteri. Universitas Diponegoro, Semarang. (Laporan Hasil Penelitian). (tidak dipublikasikan). 27 hlm.