

## Potensi Antelmintika Ekstrak Bakteri Symbion Spons Laut Terhadap Trichostrongylidae (Nematoda) Parasit Domba

### (Anthelmintic Potential of Bacteria Derived Marine Sponges Extracts Against Trichostrongylidae (Nematodes) Sheep Parasite)

Muhammad Reza Faisal<sup>1</sup>, Mujizat Kawaroe<sup>2\*</sup>, Fadjar Satrija<sup>3</sup>

(Diterima Agustus 2015/Disetujui Januari 2016)

#### ABSTRAK

Infeksi parasit trichostrongylidae (nematoda) yang menyerang domba memiliki resistansi terhadap antelmintika saat ini. Pemanfaatan bioaktif dari bakteri symbion spons memiliki potensi sebagai alternatif antelmintika yang alami terhadap infeksi parasit trichostrongylidae. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak bakteri symbion spons laut yang dapat menghasilkan golongan senyawa bioaktif sebagai antelmintika terhadap larva parasit trichostrongylidae pada domba. Isolat bakteri symbion spons yang dilabel S1 dan S2 diekstrak dengan pelarut metanol. Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan karakterisasi golongan senyawa bioaktif yang berpotensi untuk menghambat migrasi larva. Konsentrasi yang digunakan untuk uji hambat migrasi larva trichostrongylidae domba, yaitu 25, 50, 100, 250, dan 500 µg/ml. Perlakuan kontrol positif dilakukan menggunakan larutan albendazol sementara kontrol negatif menggunakan larutan NaCl fisiologis. Kedua ekstrak memiliki kandungan toksisitas dalam membunuh larva *Artemia salina* di bawah konsentrasi <1000 µg/ml. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak S1 dan S2 yang diberikan menyebabkan peningkatan hambatan migrasi larva. Kedua ekstrak memiliki kemampuan menghambat migrasi larva parasit domba dengan nilai LC<sub>50</sub>, yaitu 165,63 µg/ml (S1) dan 374,9 µg/ml (S2). Kemampuan ekstrak dalam menghambat migrasi larva disebabkan adanya kandungan golongan senyawa bioaktif yang dimiliki, yaitu triterpenoid pada kedua ekstrak dan golongan senyawa flavonoid pada ekstrak S1. Perlakuan kontrol positif dengan albendazol menunjukkan aktivitas penghambatan tinggi, yaitu 95,5% dari total larva yang diuji.

Kata kunci: antelmintika, bakteri, larva nematoda, spons

#### ABSTRACT

Trichostrongylidae (nematodes) parasitic infection of sheep were recently resistance to anthelmintics. Bioactive utilization of bacteria derived sponges had potential as anthelmintics alternative naturally against trichostrongylidae parasitic infections. The Aims of this study was to determine the activity of bacteria derived sponge extracts which produced anthelmintics bioactive compounds against sheep trichostrongylidae parasite. Bacteria derived sponges isolates which labeled S1 and S2 were extracted by methanol. Phytochemical test were conducted to determined characterization of bioactive compounds which potentially to inhibit larvae migration. Concentration which used to Larva Migration Inhibition Assay (LMIA) were 25, 50, 100, 250, and 500 µg/ml. Positive control treatment was used albendazole while negative control by physiological of NaCl. Both of extracts were contained toxicity to againts *Artemia salina* larvae which <1000 µg/ml concentration. The higher concentration of S1 and S2 extracts were affected to increase larvae migration. Both of extracts were potential to inhibit larvae migration which LC<sub>50</sub> value were 165.63 µg/ml (S1) and 374.9 µg/ml (S2). The ability of extracts which inhibit larvae migration caused by bioactive compounds which contained triterpenoids in both of extracts then flavonoid compounds only by S1. Albendazole was showed a highest inhibitory activity which contained 95.5% of the total test nematode larvae.

Keywords: anthelmintics, bacteria, nematode larvae, sponge

#### PENDAHULUAN

Antelmintika adalah obat yang digunakan untuk

melawan infeksi cacing (*helminth*) dalam tubuh penderita (Dargatz *et al.* 2000). Obat ini sering dipakai dalam mengatasi permasalahan infeksi di bidang peternakan ruminansia kecil seperti domba. Infeksi akibat larva cacing nematoda menjadi faktor utama dalam ekonomi produksi ternak domba yang menyebabkan penurunan bobot tubuh domba (He *et al.* 1988; Ademola & Ellof 2010). Cacing yang berparasit dalam saluran pencernaan ruminansia didominasi oleh anggota Super Famili Trichostrongyloidae (nematoda) diantaranya Haemonchus, Trichostrongylus, dan Cooperia. Telah diketahui adanya resistansi terhadap cacing yang beradaptasi terhadap pemakaian

<sup>1</sup> Sekolah Pascasarjana, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

<sup>2</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

<sup>3</sup> Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

\* Penulis Korespondensi: mujizatk@gmail.com

antelmintika saat ini (Hrckova & Velebny 2013). Kehadiran infeksi larva yang resistan terhadap pengaruh obat sintesis akan memberikan dampak yang panjang terhadap peternak melalui penyebaran cacing nematoda resistan ke domba yang lain (Easwaran *et al.* 2009). Eksplorasi terhadap antelmintika alternatif alami perlu dilakukan untuk menghambat perkembangan infeksi larva nematoda domba.

Spons adalah invertebrata yang termasuk dalam Filum Porifera yang menjadi perhatian utama dalam berbagai riset mengenai senyawa bioaktif (Mayer & Hamann 2005; Taylor *et al.* 2007). Spons sebagai *filter feeder*, menyerap air laut yang mengandung berbagai macam mikroorganisme salah satunya bakteri laut (Lee *et al.* 2001). Jumlah bakteri yang terkandung dalam spons dapat mencapai 40–60% dari total biomassa spons (Lee *et al.* 2001). Fungsi interaksi antara spons dan mikroorganisme tersebut antara lain untuk pertukaran nutrisi, stabilitas struktur spons, dan produksi metabolit sekunder (Taylor *et al.* 2007). Telah diketahui bahwa mikroorganisme yang bersimbiosis dengan invertebrata laut diperkirakan dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya (Faulkner *et al.* 2000). Pemanfaatan senyawa bioaktif dari bakteri simbiosis menjadi solusi dalam pengendalian eksploitasi spons dalam jumlah besar.

Penelitian mengenai eksplorasi senyawa bioaktif spons sebagai antelmintika sudah pernah dilakukan (Hrckova & Velebny 2013). Akan tetapi, informasi mengenai eksplorasi senyawa bioaktif mikroorganisme bakteri simbiosis spons terhadap infeksi larva nematoda pada domba belum ditemukan. Penelitian mengenai eksplorasi senyawa bioaktif bakteri simbiosis spons diharapkan menjadi antelmintika alternatif alami terhadap infeksi larva nematoda domba. Tujuan dari penelitian antara lain menguji aktivitas ekstrak bakteri simbiosis spons laut dalam menghasilkan senyawa bioaktif sebagai antelmintika terhadap larva nematoda domba. Hasil uji kemudian dapat menentukan isolat bakteri simbiosis spons terbaik sebagai antelmintika larva nematoda domba.

## METODE PENELITIAN

Isolat bakteri simbiosis spons yang digunakan dalam penelitian merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor dengan kode S1 dan S2 yang memiliki aktivitas paling tinggi dalam membunuh cacing *Ascaridia gali*. Peremajaan isolat dilakukan pada media agar Zobell 2216  $\frac{1}{2}$  strength dengan inkubasi suhu 28 °C selama 2 x 24 jam (Devi *et al.* 2010). Pengamatan kurva pertumbuhan dilakukan berdasarkan Sunatmo (2009) yang dimodifikasi dengan mengulturnya cairan isolat bakteri (30 °C/150 rpm/72 jam). Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan menghitung jumlah bakteri pada media agar dan pengukuran *Optical Density* (OD) dengan panjang gelombang 660 nm.

Ekstraksi senyawa bioaktif menggunakan metode Sunaryanto *et al.* (2010) yang telah dimodifikasi dengan mengulturnya isolat bakteri starter pada 1000 ml media Zobell 2216  $\frac{1}{2}$  strength (30 °C/150 rpm) hingga mencapai fase stasioner. Kultur cair kemudian ditambahkan pelarut metanol dengan perbandingan volume 1:0,75. Lapisan metanol dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C untuk mendapatkan ekstrak isolat. Uji fitokimia dilakukan dengan metode Harborne (1987) meliputi uji golongan senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, antrakuinon, dan steroid/triterpenoid dari ekstrak S1 dan S2. Uji alkaloid teridentifikasi apabila terdapat endapan cokelat setelah diberikan penambahan pereaksi Wagner, endapan putih dengan pereaksi Meyer dan endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorff. Golongan senyawa flavonoid dapat terlihat dengan adanya warna kuning, merah, atau jingga pada lapisan amil alkohol. Kehadiran busa pada larutan uji setelah direaksikan dengan pelarut menandakan teridentifikasinya golongan senyawa saponin pada ekstrak. Golongan senyawa tanin dapat teridentifikasi dengan kehadiran warna hijau, biru, atau kehitaman setelah diberikan pereaksi besi (III) klorida. Kehadiran golongan senyawa antrakuinon dapat diketahui dengan adanya warna kuning setelah diberikan pelarut bensen. Kehadiran triterpenoid pun dapat diketahui dengan perubahan larutan uji biru hijau setelah diberikan asam sulfat pekat. Uji fitokimia ini dilakukan di Laboratorium Biofarmaka, LPPM IPB.

Uji toksisitas menggunakan larva *Artemia salina* dilakukan menurut Meyer *et al.* (1982) yang dimodifikasi. Larutan ekstrak bakteri diberikan pada tiap perlakuan dengan konsentrasi 10, 100, 250, dan 500 µg/ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml air laut dan 20 ekor larva *A. salina*. Konsentrasi 0 µg/ml digunakan sebagai kontrol. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali kemudian inkubasi selama 24 jam. Pengamatan mortalitas larva dilakukan dengan mencatat jumlah larva yang mati.

$$(\%) \text{ Kematian} = \frac{\text{total kematian perlakuan} - \text{total kematian kontrol}}{\text{total larva awal}} \times 100\% \dots (1)$$

Nilai kematian organisme 50% (LC<sub>50</sub>) ditentukan dengan menggunakan kurva antara logaritma konsentrasi ekstrak (x) dan nilai probit dari persentase kematian larva udang (y). Analisis probit digunakan berdasarkan dari metode Finney dan Stevens (1948).

Uji hambatan migrasi larva infeksi nematoda domba (*Larval Migration Inhibition Assay* (LMIA)) dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode yang dikembangkan oleh Molan *et al.* (2000). LMIA dilakukan terhadap kedua ekstrak dengan konsentrasi, yaitu 25, 50, 100, 250, dan 500 µg/ml. Sampel ekstrak selanjutnya dilarutkan dengan larutan NaCl fisiologis. Perlakuan kontrol negatif dilakukan dengan menggunakan larutan NaCl fisiologis tanpa pemberian ekstrak. Perlakuan kontrol positif dilakukan dengan menggunakan larutan albendazol dengan konsentrasi 100 µg/ml. Larva uji didapatkan dari hasil

penetasan telur nematoda domba milik Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium, Fakultas Kedokteran Hewan (sebagian besar terinfeksi Famili Trichostrongylidae). Pelepasan selubung larva L<sub>3</sub> dilakukan dengan mencampurkan 3 ml larva uji oleh 75 µl/ml 2% NaClO. Hasil campuran kemudian divortex dan diinkubasi (40 °C/3 menit). Larutan disaring menggunakan kertas saring ukuran 5 µm. Hasil larva yang terlepas dari selubung didapatkan dengan merendam kertas saring ke dalam larutan fisiologis dan siap dilakukan uji.

Sumur uji dipersiapkan untuk setiap perlakuan yang berisikan 100 µl suspensi larva (~150 larva L<sub>3</sub>). Larutan ekstrak sebanyak 100 µl diberikan pada setiap perlakuan ke dalam sumur dan dicampur secara perlahan selama 5 menit. Hasil pencampuran kemudian diinkubasi (21 °C/2 jam). Perlakuan dilakukan sebanyak enam kali ulangan. Hasil inkubasi kemudian dihangatkan (37 °C/10 menit) dan disaring (20 µm) ke dalam sumur baru yang berisi 1800 µl larutan fisiologis. Proses penyaringan dilakukan secara perlahan untuk menghindari kerusakan pada kertas saring. Pencampuran larutan uji dilakukan setiap satu kali penuangan pada tiap perlakuan. Sumur baru selanjutnya diinkubasi (37 °C/45 menit) pada ruang gelap. Perhitungan jumlah larva yang berhasil melewati saringan dengan menggunakan mikroskop stereo perbesaran 10x. LMIA ditentukan mengacu pada Rabel *et al.* (1994) dengan rumus di mana An merupakan jumlah larva yang bermigrasi pada konsentrasi ke-n (ekor) sedangkan Bn merupakan jumlah larva yang tidak bermigrasi pada konsentrasi ke-n (ekor).

$$\% \text{ Larva Migrasi} = \frac{\left(\frac{Bn}{An+Bn}\right) - \left(\frac{\text{kontrol}}{\text{kontrol An+Bn}}\right)}{1 - \left(\frac{\text{kontrol}}{\text{kontrol An+Bn}}\right)} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

Nilai LC<sub>50</sub> didapatkan dengan menentukan konsentrasi kematian yang dapat secara efektif menghambat 50% migrasi larva menggunakan kurva dosis-respons antara nilai mortalitas probit (y) dengan konsentrasi logaritmik (x).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pertumbuhan Sel Bakteri

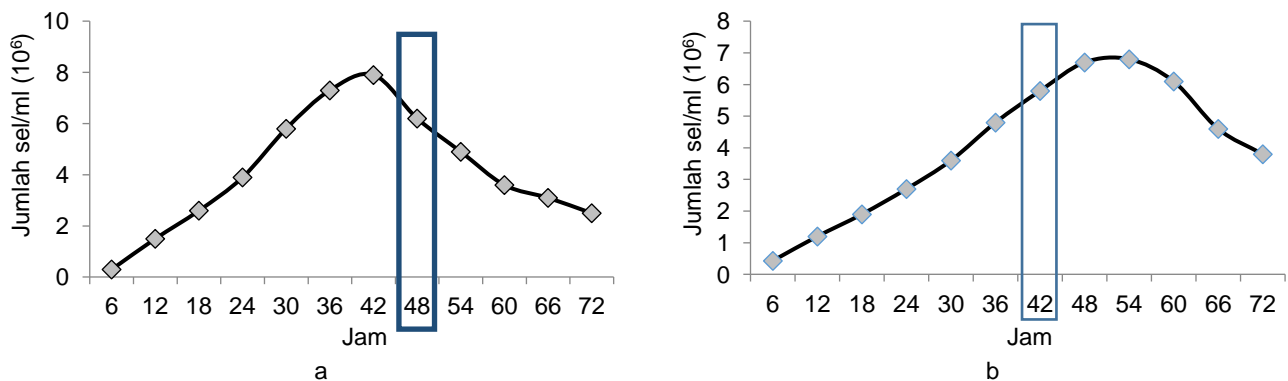
Hasil pengamatan tiap 6 jam selama 72 jam menunjukkan bahwa fase pertumbuhan sel mencapai pada fase stasioner selama 48 jam untuk S1 dan 42 jam untuk S2 (Gambar 1). Jumlah sel yang dihasilkan pada jam ke-48 oleh S1, yaitu 6,7 × 10<sup>6</sup> sel/ml dan jam ke-42 oleh S2, yaitu 7,9 × 10<sup>6</sup> sel/ml.

Produksi sel mengalami penurunan pada jam selanjutnya hingga jam ke-72 untuk kedua isolat. Hasil pengamatan kurva pertumbuhan kedua isolat dapat dijadikan sebagai penentuan waktu stasioner untuk dilakukan ekstraksi. Hal ini dikarenakan bakteri merespons secara fisiologis seperti mengeluarkan senyawa metabolit sekunder untuk dapat bertahan hidup sebelum menuju fase kematian (Bacun-Druzina *et al.* 2011).

### Ekstraksi dan Uji Fitokimia Ekstrak Isolat

Rendemen ekstrak metanol senyawa bioaktif menghasilkan jumlah rendemen dalam 1000 ml kultur cair, yaitu 153 mg (0,015%) untuk ekstrak S1 dan 248 mg (0,024%) untuk ekstrak S2. Hasil ekstraksi dari kedua isolat menunjukkan bahwa ekstrak dari bakteri lebih efektif dibandingkan dengan spons. Ekstraksi langsung pada jaringan spons diperoleh berkisar 1–10% dari bobot total tubuhnya. (Lee *et al.* 2012). Hasil uji fitokimia ekstrak S1 dan S2 dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil uji memperlihatkan golongan senyawa triterpenoid dimiliki oleh kedua ekstrak. Penelitian mengenai potensi senyawa triterpenoid terhadap nematoda masih terbatas pada ekstrak tanaman (Li *et al.* 2013; Ibrahim *et al.* 2014). Hal ini dapat diasumsikan kandungan golongan senyawa triterpenoid pada kedua ekstrak dapat diindikasikan memiliki potensi terhadap nematoda khususnya larva infeksi pada domba. Hasil uji menunjukkan kandungan golongan flavonoid hanya terdeteksi pada ekstrak S1. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kehadiran golongan senyawa ini tampak pada ekstrak yang memiliki aktivitas antelmintika yang tinggi walaupun memiliki tingkat toksisitas yang rendah (Middleton *et al.* 2000).



Gambar 1 Kurva pertumbuhan isolat bakteri (a) S1 dan (b) S2.

Tabel 1 Uji fitokimia ekstrak S1 dan S2

Golongan senyawa	Ekstrak isolat	
	S1	S2
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	-
Saponin	-	-
Tanin	-	-
Steroid/triterpenoid	+	+

Keterangan : + = terdeteksi, - = tidak terdeteksi

### Uji Toksisitas terhadap Larva *Artemia salina*

Hasil uji toksisitas ekstrak isolat memiliki variasi kematian larva yang berbeda pada tiap konsentrasinya (Tabel 2). Hasil uji memperlihatkan bahwa nilai persentase mortalitas dari kedua ekstrak isolat yang mendekati pada nilai 50% terdapat pada konsentrasi 100 µg/ml.

Hasil uji menunjukkan bahwa kematian larva *A.salina* tidak terjadi pada perlakuan kontrol. Hal ini menandakan kondisi lingkungan *A.salina* pada kontrol baik untuk hidup sehingga tidak menyebabkan kematian. Nilai mortalitas probit dalam setiap konsentrasi maka akan diketahui grafik hubungan log konsentrasi ekstrak (x) terhadap nilai mortalitas probit (y) pada Gambar 2. Hasil uji toksisitas ekstrak S1 dan S2 memperlihatkan bahwa nilai mortalitas probit berbanding lurus dengan log konsentrasi uji. Semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar pula persentase mortalitas yang terjadi.

Nilai persentase mortalitas larva *A.salina* tertinggi yang dimiliki oleh kedua isolat terdapat pada konsentrasi 500 µg/ml sebesar 100%. Hasil grafik nilai mortalitas probit menunjukkan bahwa nilai LC<sub>50</sub> ekstrak S1 dalam 24 jam sebesar 69,38 µg/ml sedangkan S2 sebesar 58,48 µg/ml. Uji toksisitas larva *A.salina* merupakan uji yang umum digunakan sebagai tahapan awal (*prescreening*) dalam penapisan senyawa bioaktif. Konsentrasi ekstrak S1 dan S2 memiliki efek toksisitas dengan nilai LC<sub>50</sub> di bawah 1000 µg/ml (Meyer *et al.* 1982). Suatu bahan kimia dinyatakan berkemampuan toksik akut bila aksi langsungnya mampu membunuh 50% atau lebih populasi uji dalam selang waktu yang pendek, misal 24 dan 48 jam (Meyer *et al.* 1982). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang dimiliki oleh kedua isolat bersifat bioaktif. Efek toksisitas yang dihasilkan terhadap larva *A.salina* diindikasikan berasal dari golongan senyawa bioaktif yang dimiliki ekstrak S1 dan S2. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Utami *et al.* (2014) di mana golongan senyawa alkaloid, steroid, dan flavonoid dapat bersifat toksik menyebabkan kematian terhadap hewan uji larva *A.salina*. Ebada *et al.* (2010) menunjukkan bahwa golongan senyawa triterpenoid memiliki toksisitas pada uji menggunakan larva *A.salina*.

### Uji Hambatan Migrasi Larva Nematoda Domba

Hasil uji migrasi larva menggunakan ekstrak isolat dengan konsentrasi yang berbeda memiliki nilai persentase yang bervariasi seperti pada Tabel 3. Hasil uji kedua isolat memperlihatkan bahwa semakin tinggi

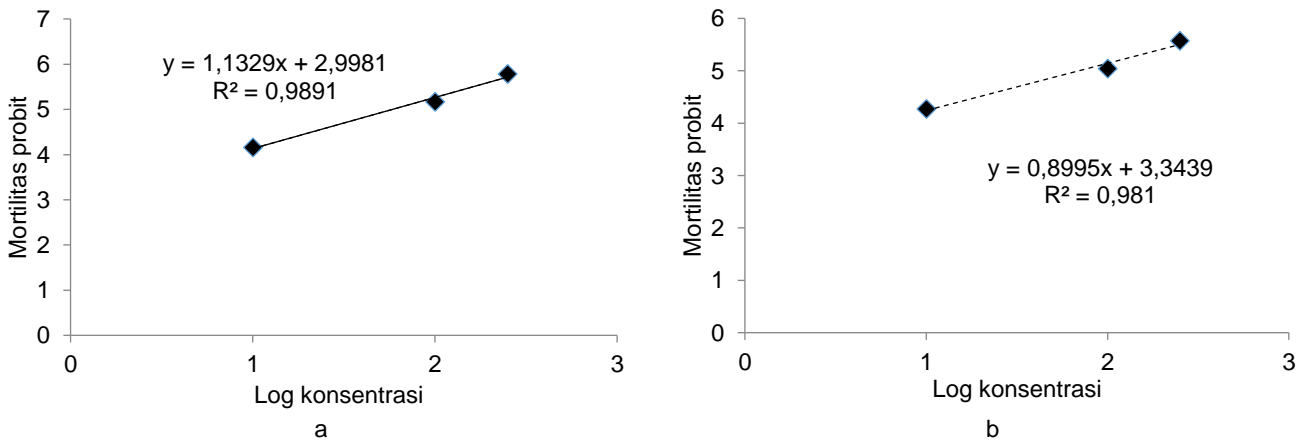
Tabel 2 Persentase mortalitas larva *A. salina* pada uji toksisitas ekstrak S1 dan S2

Sampel	Konsentrasi ekstrak (µg/ml)	Mortalitas (ulangan)			% Mortalitas <i>A. salina</i>
		U1	U2	U3	
Kontrol S1	0	0	0	0	0
	10	3	4	7	23,3
	100	10	12	9	51,7
	250	17	14	12	71,7
	500	20	20	20	100
S2	10	4	3	5	20
	100	9	11	14	56,7
	250	16	18	13	78,3
	500	20	20	20	100

konsentrasi ekstrak yang diberikan menyebabkan nilai hambat larva untuk migrasi semakin besar. Konsentrasi yang memiliki pengaruh rendah hingga tertinggi dimulai dari konsentrasi 25<50<100<250<500 µg/ml.

Hasil uji menunjukkan ekstrak S1 memiliki nilai toksisitas lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak S2 di mana konsentrasi 500 µg/ml dapat menghambat 83,70% dari seluruh total larva yang diuji. Konsentrasi tertinggi yang diuji dari ekstrak S2, yaitu 55,7% memiliki hasil yang tidak jauh berbeda dengan ekstrak S1 pada konsentrasi 250 µg/ml, yaitu 57,92%. Kontrol negatif pada uji migrasi larva tidak menghasilkan larva yang tersangkut pada kertas saring. Berikutnya larutan albendazol sebagai kontrol positif uji yang menunjukkan hasil tertinggi terhadap seluruh perlakuan. Berdasarkan nilai mortalitas probit yang didapatkan terhadap migrasi larva yang diuji menunjukkan perbandingan lurus terlihat dari grafik yang dihasilkan antara nilai mortalitas probit dengan log konsentrasi. Konsentrasi di mana larva tidak mengalami migrasi sebanyak 50%, yaitu 165,63 µg/ml untuk S1 dan 374,9 µg/ml untuk S2.

Hasil uji *in vitro* migrasi larva nematoda domba memperlihatkan adanya pengaruh daya hambat ekstrak isolat terhadap migrasi larva nematoda pada domba. Beberapa penelitian sudah terekam cukup baik mengenai potensi spons sebagai antelmintika (Chen *et al.* 2002; Mayer & Hamann 2005). Informasi mengenai potensi bakteri terhadap menghambat perkembangan larva nematoda masih sedikit seperti potensi toksisitas *Bacillus* spp. dalam menghambat pertumbuhan larva *Haemonchus contortus* (Sinott *et al.* 2012). Akan tetapi informasi potensi bakteri simbiosis dari spons tersebut belum ditemukan. Berdasarkan hasil uji diperkirakan senyawa bioaktif yang teridentifikasi pada uji fitokimia memberikan kontribusi dalam menghambat migrasi nematoda domba. Hal ini menandakan kandungan ekstrak S1 dan S2 termasuk ke dalam kandungan toksik (Gambar 3). Besarnya nilai hambat migrasi yang dihasilkan dapat memberikan informasi baru mengenai potensi bioaktif bakteri simbiosis spons laut terhadap larva nematoda domba. Eksplorasi antelmintika alami yang telah dilakukan sebagian besar berasal dari lingkungan terestrial. Akan tetapi beberapa penelitian membuktikan kandungan senyawa bioaktif dari organisme laut

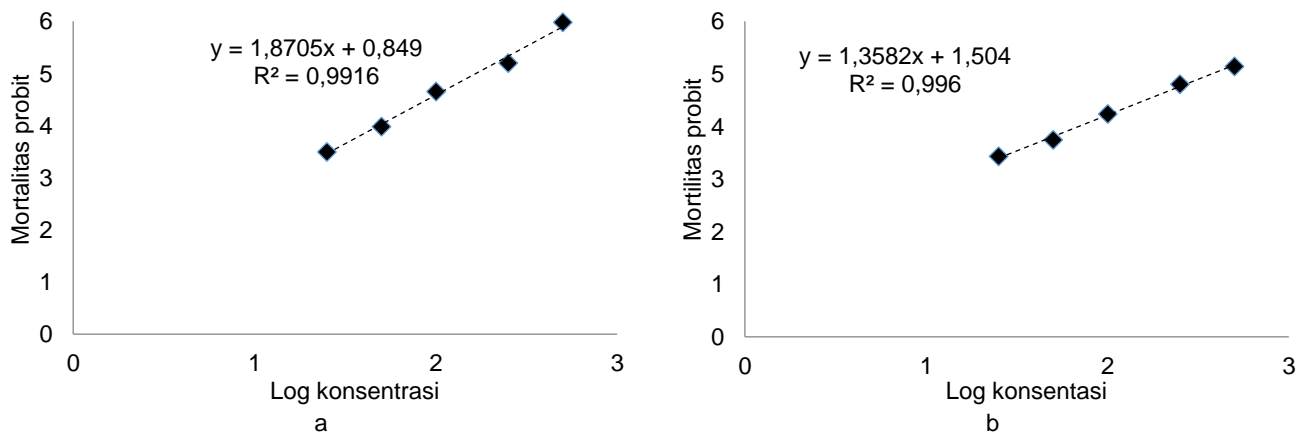


Gambar 2 Analisis regresi log konsentrasi dengan probit % mortalitas ekstrak (a) S1 dan (b) S2 terhadap larva *A. salina*.

Tabel 3 Persentase mortalitas larva nematoda domba terhadap ekstrak S1 dan S2

Kode isolat	Konsentrasi (µg/ml)	Migrasi larva nematoda domba						LMIA (%)
		U1	U2	U3	U4	U5	U6	
S1	25	115	123	128	116	127	115	6,63
	50	112	110	107	116	113	112	15,42
	100	93	89	97	83	85	87	36,47
	250	64	57	59	62	55	65	57,92
	500	26	29	21	25	19	18	83,7
S2	25	119	124	121	129	131	118	5,86
	50	113	117	126	115	109	114	10,5
	100	104	98	108	111	112	97	22,31
	250	79	76	83	81	85	82	42,24
	500	65	63	58	55	66	57	55,7
Albendazol (100 µg/ml)		3	7	5	8	11	4	95,49
Kontrol (-)		127	135	129	131	139	142	0

Keterangan: U: Ulangan



Gambar 3 Analisis regresi log konsentrasi dengan probit % mortalitas ekstrak (a) S1 dan (b) S2 terhadap larva nematoda domba.

memiliki aktivitas yang tidak kalah tinggi dibandingkan lingkungan terestrial. Lysek *et al.* (2003) menyatakan bahwa jumlah rata-rata kandungan total flavonoid yang ada di tanaman terestrial memiliki hasil yang serupa dengan spons. Perbandingan pemberian albendazol dengan ekstrak kedua isolat jauh berbeda di mana albendazol memberikan efek tiga kali lebih besar pada ekstrak S1 dan 4 kali lebih besar pada ekstrak S2. Namun larutan pemakaian albendazol yang berlebihan dapat mengakibatkan akumulasi

senyawa sintesis yang dapat membahayakan kesehatan domba (Teruel *et al.* 2011).

### KESIMPULAN

Ekstrak bioaktif dari bakteri laut yang bersimbiosis dengan spons memiliki potensi dalam menghambat migrasi larva nematoda domba. Ekstrak S1 memiliki toksisitas yang lebih tinggi dalam menghambat

migrasi larva nematoda gastrointestinal domba. Akan tetapi pemakaian albendazol tetap memiliki pengaruh yang lebih tinggi dibandingkan kedua ekstrak tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ademola IO, Eloff JN. 2010. In vitro anthelmintic activity of *Combretum molle* (R. Br. ex G. Don) (Cunbretaceae) against *Haemonchus contortus* ova and larvae. *Veterinary Parasitology*.169(1–2): 198–203. <http://doi.org/fnp7jb>
- Bacun-Druzina V, Butorac A, Mrvacic J, Dragicevic TL, Sthelik-Tomas V. 2011. Bacterial stationary-phase evolution. *Food Technology and Biotechnology*. 49(1): 13–23.
- Chen Y, McCarthy PJ, Harmody DK, Schimoler-O'Rourke R, Chilson K, Selitrennikoff C, Pomponi SA, Wright AE. 2002. New bioactive peroxides from marine sponges of the Family Plakiniidae. *Journal of Natural Products*. 65(10): 1509–1512. <http://doi.org/fd8jzx>
- Dargatz DA, Dargatz JLT, Sangster NC. 2000. Antimicrobial and anthelmintic resistance. *Veterinary Clinic of North America*. 16(3): 515–536.
- Devi P, Wahidullah S, Rodrigues C, Souza LD. 2010. The sponge-associated bacterium *Bacillus licheniformis* SAB1: a source of antimicrobial compounds. *Marine Drugs*. 8(4): 1203–1212. <http://doi.org/bmnpn>
- Easwaran C, Harikrishnan TJ, Raman M. 2009. Multiple anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep in Southern India. *Veterinarski Arhiv*. 79(6): 611–620.
- Ebada SS, Lin W, Proksch P. 2010. Bioactive sesterterpenes and triterpenes from marine sponges: occurrence and pharmacological significance. *Marine Drugs*. 8(2): 313–346. <http://doi.org/dpzrr7>
- Faulkner DJ, Harper MK, Haygood MG, Salomon CE, Schmidt EW. 2000. Symbiotic bacteria in sponges; sources of bioactive substances. In: Fusetani, N (Ed). *Drugs from the sea*, Basel; Karger: 107–119. <http://doi.org/fhq3dr>
- Finney DJ, Stevens WL. 1948. A table for the calculation of working probits and weights in probit analysis. *Biometrika*. 35(1–2): 191–201. <http://doi.org/dvrnww>
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung (ID): ITB Pr.
- Hrckova G, Velebny S. 2013. Parasitic helminths of humans and animals: health impact and control. In: Hrckova G, Velebny S. *Pharmacological Potential of Selected Natural Compounds In The Control of Parasitic Diseases*, Volume 9. *Pharmaceutical Science & Drug Development*. United Kingdom (UK). Springer. 31–99. <http://doi.org/bbk2>
- Ibrahim HS, Hamouda SES, El-kady AMA, Abd-Alla HI. 2014. Study the nematocidal efficiency of *Corchorus olitorius*, *Cinnamomum camphora*, *Portulaca oleraceae* and *Lantana camara* extracted saponins and their formulations on root-knot nematodes *Meloidogyne* Spp.. *Nature and Science*.12(11): 40–45.
- Lee YK, Lee JH, Lee HK. 2001. Microbial symbiont in marine sponges. *The Journal of Microbiology*. 39: 254–264.
- Li Wei, Sun YN, Yan XT, Yang SY, Lee SJ, Byun HJ, Moon CS, Han BS, Kim YH. 2013. Isolation of nematocidal triterpenoid saponins from *Pulsatilla koreana* root and their activities against *Meloidogyne incognita*. *Molecules*.18(5): 5306–5316. <http://doi.org/bbk3>
- Lysek N, Kinscherf R, Claus R, Lindeld T. 2003. L-5-Hydroxytryptophan: antioxidant and anti-apoptotic principle of the intertidal sponge *Hymeniacidon heliophila*. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 58(7–8): 568–572. <http://doi.org/bbk4>
- Mayer AMS, Hamann MT. 2005. Marine pharmacology in 2001–2002: marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affectin the cardiovascular, immune and nervous system and other miscellaneous mechanisms of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 140(3–4): 265–286. <http://doi.org/d84zfw>
- Meyer BN, Ferrighi NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45(5): 31–34. <http://doi.org/fdr53r>
- Middleton E, Kandaswami CH, Theoharides TC. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Reviews*. 52: 673–751.
- Molan AL, Waghorn GC, Min BR, McNabb WC. 2000. The effect of condensed tannins from seven herbages on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration in vitro. *Folia Parasitologica*. 47(1): 39–44. <http://doi.org/bbk5>
- He Simon, Tiuria R, Satrija F. 1988. Taksiran kerugian produksi daging akibat infeksi cacing saluran pencernaan pada ternak domba. *Seminar Parasitologi Nasional V*. 85–96.

- Rabel B, Mc Gregor R, Douch PGC. 1994. Improved bioassay for estimation of inhibitory effects of ovine gastrointestinal mucus and anthelmintics on nematoda larval migration. *International Journal for Parasitology*. 24(5): 671–676. <http://doi.org/d56ss9>
- Sinott MC, Filho NAC, Castro LLD, Lorenzon LB, Pinto NB, Capella GA, Leite FPL. 2012. *Bacillus* spp. toxicity against *Haemonchus contortus* larvae in sheep fecal cultures. *Experimental Parasitology*. 132(2): 103–108. <http://doi.org/bbk6>
- Sunaryanto R, Marwoto B, Irawadi TT, Mas'ud ZA, Hartato L. 2010. Isolation and characterization of antimicrobial substance from marine *Streptomyces* sp. *Journal Microbiology Indonesia*. 4(2): 84–89. <http://doi.org/d34xfk>
- Sunatmo TE. 2009. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Jakarta (ID): Ardy Agency.
- Taylor MW, Radax R, Steger D, Wagner M. 2007. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 71(2): 295–347. <http://doi.org/bw2w7t>
- Teruel M, D'ercole J, Catalano R. 2011. Evaluation of potential embryo toxicity of albendazol sulphoxide in CF1 mice. *Biocell*. 35(1): 29–33.
- Utami AWA, Wahyudi AT, Batubara I. 2014. Toxicity, anticancer and antioxidant activity of extracts from marine bacteria associated with sponge *Jaspis* sp. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 5(4): 917–923.